



UnB

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

TESE DE DOUTORADO

**Desenvolvimento de fases sólidas molecularmente
impressas para amostragem e extração de cafeína em
matrizes de águas naturais**

FABIANA CASARIN

Orientadora

Profa. Dra. Ana Cristi Basile Dias

Coorientador

Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

Brasília, DF.
2020.



UnB

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

**Desenvolvimento de fases sólidas molecularmente
impressas para amostragem e extração de cafeína em
matrizes de águas naturais**

FABIANA CASARIN

Orientadora

Profa. Dra. Ana Cristi Basile Dias

Coorientador

Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

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.

2020

*“Todo efeito tem uma causa. Todo efeito inteligente tem uma causa inteligente.
O poder da causa inteligente está na razão da grandeza do efeito.”*

Alan Kardec

*“Ninguém pode voltar atrás e fazer um novo começo, mas é possível começar de
novo e fazer um novo fim.”*

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

A Deus, maior fonte de força espiritual que o homem tenha conhecido. Agradeço a Deus pelo dom da vida, sou grata por ter a capacidade de aprender com tudo aquilo que a vida coloca em meu caminho e com todas as escolhas que faço, tanto as certas como as erradas.

Deus, obrigada por trilhar meu caminho e me colocar nas mãos de pessoas tão especiais, minha família. Waldir e Maria, meus pais, agradeço hoje e sempre por todo o amor que me dedicaram e por toda a educação que me proporcionaram. Vocês são meu exemplo de vida e meu alicerce de sustentação. Aos meus irmãos, Fábio, Alencar e Andressa, espíritos queridos que estão me ajudando a aprender nesta jornada. O amor e a amizade e o elo que nos une em toda a nossa caminhada. As minhas cunhadas, Telma e Katyuscya pelo apoio e amizade. Aos meus sobrinhos, Stéfani, minha querida afilhada, a Luísa, Miguel e a Cecília. Ao meu marido Sandro, que partilha comigo esta caminhada. As minhas queridas tias, Bernardete e Elsa, que de diferentes formas me ajudaram a chegar aqui ao longo de minha vida. In memoriam a minha cunhada Karin. Aos amigos, Roberto, Marli, Gabriel e Sabrina por serem minha segunda família.

A minha orientadora, professora Ana Cristi, pela sincera amizade demonstrada em todos os momentos, pela paciência, estímulo, compreensão e principalmente pelos ensinamentos de total importância, para que eu conseguisse chegar até aqui, contribuindo de maneira inenarrável para meu crescimento profissional. Ao Professor Marco Tadeu Grassi, meu co-orientador, pelo auxílio, dedicação e sábias orientações. Agradeço aos professores do Instituto de Química que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial, ao professor Alexandre Fonseca pela ajuda e orientação prestadas sempre que precisei, ao professor Fernando Sodr e e Fabricio Machado pelas inúmeras dúvidas solucionadas e equipamentos disponibilizados para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha grande amiga e companheira, Camila, uma parceira de pesquisa, única, e que trabalha sem titubear em nome da pesquisa, obrigada pelo apoio, colaboração, discussões e por tornar essa caminhada mais leve. A Lilian por me ajudar no início da minha caminhada no MIP e pela amizade sempre demonstrada. A Eriylene, minha querida amiga e parceira de viagem, um exemplo de ser humano, obrigada por toda a ajuda no desenvolvimento de todas as análises no HPLC. A Pamela, Angélica, Damiana, Jackeline, Hadassa, Gabriel e Arthur, meus amigos e colegas dessa jornada acadêmica. A minha amiga Laiz por estar ao meu lado no laboratório e fora dele. Aos meus grandes

amigos da casa espírita, O Bom Samaritano, que me ajudaram no meu desenvolvimento espiritual por permitir que essa caminhada acontecesse com menor peso.

Aos alunos de iniciação científica: Luana, Maria Vitória, Luan, Juliana, Izabella, Lucas e Gabriela que contribuíram em todas as etapas experimentais.

Agradeço ao Instituto de Química - IQ e a Universidade de Brasília – UnB pela oportunidade de estudar, Central Analítica, LMC, a PF e a FINEP. Agradeço as agências de fomento (CAPES, CNPQ e FAP-DF) pelos incentivos financeiros e principalmente a CNPQ pelas bolsas de pós-graduação.

A todos que contribuíram e sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando-me com carinho e dedicação.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de polímeros molecularmente impressos híbridos (HMIP), para adsorção seletiva de cafeína (CAF) em águas superficiais. Para tanto, foram sintetizadas 5 HMIPs e seus respectivos polímeros não impressos (HNIP), utilizando-se processos sol-gel e radicalar. Primeiramente, através de planejamento experimental com triplicata no ponto central, foi estudado as proporções do monômero funcional (MF), agente de ligação cruzada (ALC) e catalisador (ácido e básico), para a síntese sol-gel híbrido (HMIP-SG). O estudo determinou as condições ótimas de síntese: presença de catalisador básico e a proporção 1:4 MF - ALC. A melhor condição de síntese obtida foi repetida, produzindo-se um HMIP em superfície de sílica ativada (HMIP-SI). Em paralelo, foi estudada a síntese radicalar para o desenvolvimento de polímeros híbridos por diferentes processos: em massa (HMIP-B), precipitação (HMIP-P) e suspensão (HMIP-S). Os materiais foram amplamente caracterizados e comparados com dados texturais, morfológicos, de estabilidade térmica, de adsorção e de seletividade. A capacidade de adsorção dos materiais foi avaliada através de ensaios de cinéticas e isotermas de equilíbrio de adsorção. Os HMIPs sintetizados se ajustaram ao modelo cinético de pseudo-segunda ordem e a isoterma de adsorção que melhor descreveu o equilíbrio para a CAF foi o modelo de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção. As capacidades máximas de adsorção (Q_m) foram estimadas em $1,9 \text{ mg g}^{-1}$ para o HMIP-SG e $1,3 \text{ mg g}^{-1}$ para o HMIP-SI em superfície. Para os MIPs radicalares foi estimado 5 mg g^{-1} para o HMIP-S, $3,1 \text{ mg g}^{-1}$ para o HMIP-P e HMIP-B $1,98 \text{ mg g}^{-1}$. Foram obtidos fatores de impressão (FI) altos para o HMIP-SG de 22,5 sendo superiores a todos os estudos relatados na literatura. O HMIP-S apresentou um FI de 5 e sua caracterização demonstrou ser uma excelente fase sólida para a CAF. O coeficiente de seletividade do HMIP-SG e o HMIP-S apresentaram parâmetros adequados para a CAF em HPLC-UV frente as espécies interferentes. Assim, foram utilizados o HMIP-SG e o HMIP-S para serem aplicados em procedimentos de extração em fase sólida e ambos apresentaram altas taxas de recuperação de 92,7-93 % para o HMIP-SG e 101 a 103% para o HMIP-S com fator de pré-concentração de 250 vezes. O HMIP-S foi aplicado como fase ligante (GL-HMIP) em amostragem passiva por gradiente difusivo em filmes finos para substâncias orgânicas (o-DGT) para CAF em água. O coeficiente de difusão para a CAF foi de $1,575 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ pelo método de difusão aparente. Os amostradores o-DGT foram aplicados em amostras de água de consumo o qual foi detectada CAF na concentração de $\cong 17 \text{ ng L}^{-1}$ e no Lago Paranoá de $49,6 \text{ ng L}^{-1}$. O o-DGT desenvolvido neste estudo está de acordo com os princípios exigidos pela técnica DGT, tornando possível a determinação de CAF em matrizes aquosas.

ABSTRACT

This work had the aim of developing hybrid molecularly imprinted polymers (HMIP) for selective caffeine (CAF) adsorption in surface waters. For this, 5 HMIPs and their respective unprinted polymers (HNIP) were synthesized, using sol-gel and radical processes. First, through experimental planning with triplicate at the central point, it was evaluated the proportions of: functional monomer (FM), cross-linking agent (ALC) and catalyst (acid and basic), for the hybrid sol-gel synthesis (HMIP-SG). The study determined the optimal conditions for synthesis: presence of a basic catalyst, and the 1:4 FM - ALC ratio. The best synthesis condition obtained was repeated, producing a HMIP on an activated silica surface (HMIP-SI). In parallel, radical synthesis was studied for the development of hybrid polymers by different processes: bulk (HMIP-B), precipitation (HMIP-P) and suspension (HMIP-S). The materials were widely characterized and compared with textural, morphological, thermal stability, adsorption, and selectivity data. The adsorption capacity of the materials was evaluated through kinetics tests and adsorption equilibrium isotherms. The synthesized HMIPs have fit into the kinetic model of pseudo-second-order and the adsorption isotherms that best described the equilibrium for CAF were the Langmuir-Freundlich model for two adsorption sites. The maximum adsorption capacities (Q_m) were estimated at 1.9 mg g^{-1} for HMIP-SG and 1.3 mg g^{-1} for HMIP-SI on the surface. For radical MIPs, 5 mg g^{-1} was estimated for HMIP-S, 3.1 mg g^{-1} for HMIP-P and 1.98 mg g^{-1} for HMIP-B. High print factors (FI) were obtained for the HMIP-SG of 22.5 higher than all studies reported in the literature. HMIP-S presented a FI of 5, its characterization proved to be an excellent solid phase for CAF. The selectivity coefficient of HMIP-SG and HMIP-S presented adequate parameters for CAF against interfering species. Thus, HMIP-SG and HMIP-S were used for application in solid-phase extraction procedures, in which both presented high recovery rates of 92.7-93% for HMIP-SG and 101 to 103% for the HMIP-S with 250 times pre-concentration factor. HMIP-S was applied as a binding phase (GL-HMIP) in passive sampling by a diffusive gradient in thin films for organic substances (o-DGT) for CAF in water. The diffusion coefficient for CAF was $1.575 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ by the apparent diffusion method. The o-DGT samplers were applied to drinking water samples where CAF was detected at a concentration of $\cong 17 \text{ ng L}^{-1}$ and in Paranoá Lake at a concentration of 49.6 ng L^{-1} . The o-DGT developed in this study is in accordance with the principles required by the DGT technique, making it possible to determine CAF in aqueous matrices.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xvii
1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES	5
2.2 CAFEÍNA	7
2.2.1 Preparo de amostra de cafeína em matrizes aquosas	9
2.2.1.1 Extração em fase sólida (SPE).....	9
2.2.2 Amostrador passivo de difusão em filmes finos por Gradiente de concentração (o-DGT).....	12
2.3 POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS.....	18
2.3.1 Métodos de síntese dos MIPs	21
2.3.1.1 Mecanismo sol-gel para obtenção de MIPs inorgânicos.....	21
2.3.1.2 Mecanismo Radicais para Obtenção de MIPs orgânicos	24
2.3.2 MIP híbrido para determinação de cafeína.....	25
2.3.3 Caracterização dos MIPs	26
2.3.3.1 Estudos de Adsorção	27
3 Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel.....	33
3.1 INTRODUÇÃO	33
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.2.1 Reagentes	34
3.2.2 Equipamentos.....	34
3.2.3 Planejamento Fatorial para Síntese Sol-Gel Híbrido	36
3.2.4 Síntese do HMIP Sol-Gel	37
3.2.5 Síntese do HMIP Sol-Gel em Superfície	37
3.2.6 Caracterização Química e Estrutural dos HMIPs/HNIPs	38
3.2.7 Estudos de Adsorção Cinética	39

3.2.8 Estudo de equilíbrio de adsorção.....	39
3.2.9 Estudo Termodinâmico de Adsorção	40
3.2.10 Estudo de Seletividade	40
3.2.11 Condições do método cromatográfico.....	41
3.2.12 Procedimento de extração HMIP-SG em SPE	41
3.2.12.1 Confeccção dos cartuchos de extração.....	41
3.2.12.2 Montagem do sistema de extração.....	42
3.2.12.3 Avaliação da MISPE para extração da CAF	43
3.2.12.4 Estudo do volume de breakthrough.....	43
3.2.12.5 Estudo de reutilização	43
3.2.13 Aplicação em Amostras de Águas Superficiais	43
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
3.3.1 Planejamento fatorial para a Síntese do MIP sol-gel híbrido	45
3.3.2 Síntese do HMIP Sol-Gel em Superfície de Sílica.....	52
3.3.3 Caracterização Química e Estrutural dos Polímeros	53
3.3.3.1 Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR).....	53
3.3.3.2 Termogravimetria (TGA).....	54
3.3.3.3 Porosimetria	55
3.3.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	56
3.3.4 Cinética e equilíbrio de adsorção dos HMIP.....	58
3.3.5 Parâmetros Termodinâmicos	62
3.3.6 Estudos de Seletividade.....	63
3.3.7 Avaliação do desempenho analítico da MISPE	65
3.3.7.1 Volume breakthrough e capacidade adsortiva da MISPE	66
3.3.7.2 Estudo de reutilização	67
3.3.7.3 Aplicação em Amostras de Águas Superficiais.....	68
3.4 CONCLUSÃO	69
4 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS RADICALARES HÍBRIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA.....	71

4.1 INTRODUÇÃO	71
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	72
4.2.1 Reagentes e Equipamentos	72
4.2.3 Preparo do HMIP pelo Processo Radicalar	72
4.2.4 Caracterização Química e Estrutural dos Polímeros	73
4.2.5 Estudo de Adsorção.....	73
4.2.6 Estudo de Seletividade	74
4.2.7 Estudo dos parâmetros da MISPE para extração da CAF.....	74
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4.3.1 Mecanismo de Síntese dos HMIPs	75
4.3.2 Caracterização dos HMIPs e HNIPs	76
4.3.2.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	76
4.3.2. 2 Termogravimetria (TGA).....	76
4.3.2.3 Microscopia e porosimetria.....	77
4.3.3 Cinética de equilíbrio de Adsorção.....	80
4.3.4 Parâmetros Termodinâmicos	85
4.3.5 Estudos de Seletividade.....	86
4.3.6 Otimização do método MISPE	87
4.3.7. Volume de breakthrough e capacidade adsortiva do MISPE	90
4.3.8 Estudo de reutilização	91
4.3.9 Aplicação em Amostras de Águas Superficiais	91
4.4 CONCLUSÃO	93
5 AMOSTRADOR O-DGT PARA A DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA EM AMOSTRAS AQUOSAS	96
5.1 INTRODUÇÃO	96
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	97
5.2.1 Reagentes e equipamentos	97
5.2.2 Preparação da membrana difusiva de agarose	97
5.2.3 Preparação de fase de ligação.....	97
5.2.4 Estudo da capacidade de adsorção GL-HMIP	98

5.2.5 Planejamento fatorial para investigação de fatores que influenciam a adsorção da CAF na GL-HMIP.....	98
5.2.6 Estudos de dessorção das substâncias adsorvidas no GL-HMIP.....	99
5.2.7 Determinação do Fator de Eluição.....	100
5.2.8 Determinação do Coeficiente de Difusão aparente da CAF.....	100
5.2.9 Efeito do pH e da força iônica na adsorção das substâncias com a utilização do GL-HMIP-o-DGT.....	101
5.2.10 Aplicação do DGT.....	101
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	103
5.3.1 Estudo da capacidade de adsorção GL-HMIP.....	103
5.3.2 Planejamento fatorial para investigação de fatores que influenciam na adsorção da CAF na membrana de ligação.....	104
5.3.3 Otimização da dessorção da CAF em GL-HMIP.....	105
5.3.4 Efeito do pH e da força iônica na sorção das substâncias com a utilização do GL-HMIP-o-DGT.....	109
5.3.5 Determinação do coeficiente de difusão aparente.....	110
5.3.6 Aplicação do DGT em água de consumo e de superfície.....	112
5.4 CONCLUSÃO.....	112
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	115
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

ABS	Acrilonitrila Butadieno Estireno
AIBN	2,2'-azobisisobutironitrila
ALC	Agente de ligação cruzada
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APTES	3-aminopropiltrióxissilano
APTMS	3-aminopropiltrimetoxissilano
BET	Brunauer, Emmett and Teller
CAF	Cafeína
CEs	Contaminantes emergentes
Chemcatcher	Amostrador passivo utilizando disco de Empore
D	Coeficiente de difusão
D`	Coeficiente de difusão aparente
DF	Distrito Federal
DGT	Amostrador Passivo de Gradientes Difusivos em Filmes Finos
DOM	Matéria orgânica dissolvida
EGDMA	Etilenoglicol dimetacrilato
ETE	Estação de tratamento de esgoto
EVOP	Operações Evolucionárias
f_e	Fator de eluição
FI	Fator de impressão
FT-IR	Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier
GL-HMIP	Fase ligante com polímero híbrido molecularmente impresso
GL-HMIP-o-DGT	Fase ligante com polímero híbrido molecularmente impresso para Amostrador Passivo de Gradientes Difusivos em Filmes Finos para compostos orgânicos
HLB	Resina hidrofílica-lipofílica balanceada
HMIP	Polímero híbrido molecularmente impresso
HMIP-B	Polímero híbrido molecularmente impresso pelo processo de <i>bulk</i>
HMIP-P	Polímero híbrido molecularmente impresso pelo processo de precipitação
HMIP-S	Polímero híbrido molecularmente impresso pelo processo de suspensão
HMIP-SG	Polímero híbrido molecularmente impresso pelo método sol-gel
HMIP-SI	Polímero híbrido molecularmente impresso pelo método sol-gel e processo de superfície de sílica

HNIP	Polímero híbrido não impresso
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HPLC-UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com ultravioleta
IR	Iniciador Radicalar
IS	Salinidade/força iônica
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
K	Coeficiente de seletividade
k'	Coeficiente de seletividade relativo
Kd	Coeficiente de distribuição
LOD	Limite de determinação
LOQ	Limite de quantificação
MAA	Ácido metacrílico
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Monômero funcional
MIP	Polímero molecularmente impresso
MISPE	Extração em fase sólida molecularmente impressa
MM	Molécula molde
NIP	Polímero molecularmente não impresso
NISPE	Extração em fase sólida não impressa
o-DGT	Amostrador Passivo de Gradientes Difusivos em Filmes Finos para compostos orgânicos
POCIS	Amostrador Integrativo de Compostos Orgânicos Polares
POCs	Produtos químicos orgânicos polares
PVA	Álcool Polivinílico
Q_e	Capacidade de adsorção do analito no equilíbrio
Q_m	Capacidade máxima de adsorção
RSD	desvio padrão relativo
SPE	Extração em Fase sólida
SPMDs	Dispositivos de membrana semipermeável
TEB	Teobromina
TEF	Teofilina
TEOS	Tetraetoxissilano
TGA	Termogravimetria
UV	Ultravioleta
ΔG°	Variação da energia livre de Gibbs
ΔH°	Variação da entalpia padrão
ΔS°	Variação da entropia padrão

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fatores e níveis estudados durante a triagem no planejamento experimental.	36
Tabela 2. Matriz do planejamento fatorial 2^3 , em sua forma codificada.	37
Tabela 3. Matriz de triagem do planejamento fatorial 2^3 , em sua forma codificada e resposta (FI).	46
Tabela 4. Valores dos efeitos da triagem dos fatores em estudo.	47
Tabela 5. Planejamento fatorial 2^2 , com triplicata, no ponto central, em sua forma codificada e resposta (FI).	47
Tabela 6. Cálculo dos efeitos e respectivos índices estatísticos para FI.	48
Tabela 7. Fatores e níveis estudados no planejamento experimental EVOP.	48
Tabela 8. Planejamento fatorial 2^2 , com triplicata no ponto central, em sua forma codificada e resposta (FI).	49
Tabela 9. Cálculo dos efeitos e respectivos índices estatísticos para FI do planejamento EVOP.	49
Tabela 10. Análise de variância para a FI do MIP (ANOVA).	50
Tabela 11. Porosimetria dos HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.	56
Tabela 12. Parâmetros cinéticos para os HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.	59
Tabela 13. Parâmetros das isotermas de adsorção para os HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.	62
Tabela 14. Parâmetros Termodinâmicos para os HMIPs sol-gel híbridos.	63
Tabela 15. Parâmetros analíticos de quantificação da CAF, TEB e TEF.	64
Tabela 16. Parâmetros relacionados ao efeito de impressão (k_d , k , k') do HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.	64
Tabela 17. Recuperação da CAF em amostras de água superficial.	68
Tabela 18. Porosimetria dos HMIPs/HNIPs radicalar híbridos.	80
Tabela 19. Parâmetros cinéticos para os MIPs/NIPs radicalar híbridos.	82
Tabela 20. Parâmetros das isotermas de adsorção para os HMIPs/HNIPs.	83
Tabela 21. Parâmetros Termodinâmicos para os MIPs/NIPs radicalar híbridos.	86
Tabela 22. Parâmetros relacionados ao efeito de impressão (k_d , k , k') do HMIPs/HNIPs radicalar híbridos.	87
Tabela 23. Recuperação da CAF em amostras de água superficial.	92
Tabela 24. Dados de FI e parâmetro de seletividade de MIPs para reconhecimento de CAF.	92
Tabela 25. Fatores e níveis estudados durante o planejamento experimental.	99
Tabela 26 Matriz do planejamento fatorial 2^2 em sua forma codificada.	99
Tabela 27. Fatores e níveis estudados durante o planejamento experimental 2^2	101

Tabela 28 Matriz do planejamento fatorial 2^2 em sua forma codificada.....	101
Tabela 29. Recuperação da CAF com a utilização do o-DGT em amostras de água de consumo e água superficial.	112

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rotas de entrada de CEs em águas superficiais. Adaptado de Canela e colaboradores ⁴	6
Figura 2. Estrutura molecular da CAF.....	7
Figura 3. Principais etapas envolvidas na extração em fase sólida (SPE) Adaptado de Dourado ⁴³ (1) condicionamento; (2) <i>loading</i> (separação do analito); (3) lavagem e (4) eluição do analito.....	10
Figura 4. Representação do dispositivo o-DGT contendo todas as membranas componentes do sistema. DBL, do inglês <i>Diffusive Boundary Layer</i> (adaptado Chen ⁵⁰)	14
Figura 5. Esquema da síntese de polímero molecularmente impresso (adaptado de Peixoto ⁴⁷).....	19
Figura 6. Mecanismo de síntese sol-gel para a formação dos MIPs. (1) reação de hidrólise do alcóxido de silício (2) reação de condensação aquosa (3) e reação de condensação alcoólica.....	22
Figura 7. Esquema de montagem do cartucho MISPE. (1) adição do fritz inferior e membrana de PTFE 0,22 µm, devidamente, recortada; (2) adição da massa aferida de HMIP e (3) adição do fritz superior para compactação da massa; (4) Cartucho para MISPE.	42
Figura 8. Sistema MISPE. (A) cartucho de extração; (B) tubo de viton e (C) bomba peristáltica.	42
Figura 9. Esquema da síntese do polímero molecularmente impresso pelo processo sol-gel híbrido.....	45
Figura 10. Gráfico de <i>Pareto</i> para o fator de impressão.....	51
Figura 11. Superfície resposta para os fatores em estudo	51
Figura 12. Esquema de síntese da CAF-MIP pelo processo sol-gel e a técnica de impressão de superfície (adaptado Zhi ¹¹⁸).	53
Figura 13. Espectro de absorção no infravermelho para os polímeros sol-gel híbridos.	54
Figura 14. TGA dos polímeros MIPs/NIPs sol-gel híbridos.....	55
Figura 15. Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos polímeros HMIP-SG (a e b), HNIP-SG (c e d), HMIP-SI (e e f) e HNIP-SI (g e h). As imagens foram ampliadas em 500 e 5.000 vezes.	57
Figura 16. Efeito do tempo na adsorção de CAF pelos HMIP-SG, HMIP-SI, HNIP-SG e HNIP-SI.	58

Figura 17. Dados experimentais obtidos para construção das Isoterma de adsorção do dos HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.	60
Figura 18. Isotermas de adsorção dos HMIP/HNIP (a) HMIP-SG e HNIP-SG, (b) HMIP-SI e HNIP-SI com os ajustes para os modelos descritos na Tabela 13.	61
Figura 19. Estrutura molecular dos análogos empregados nos ensaios de seletividade TEF (a), TEB (b) e (c) CAF.	63
Figura 20. Separação cromatográfica (□) HMIP-SG, (□) HNIP-SG e (□) Injeção direta com a mistura ternaria CAF, TEB e TEF.	66
Figura 21. Curva de <i>breakthrough</i> empírica para o HMIP-SG como fase sólida.	67
Figura 22. Os ciclos de reutilização do HMIP de CAF.	68
Figura 23. Esquema da síntese do polímero molecularmente impresso pelo processo radicalar híbrido.	75
Figura 24. Espectro de absorção no infravermelho para os polímeros HMIPs/HNIPs radicalares híbridos.	76
Figura 25. TGA dos polímeros HMIPs/HNIPs radicalar híbridos.	77
Figura 26. Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos polímeros HMIP-B (a e b), HNIP-B (c e d). As imagens foram ampliadas em 500 e 20.000 vezes.	78
Figura 27. Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos polímeros HMIP-P (a e b), HNIP-P (c e d). As imagens foram ampliadas em 500 e 20.000 vezes.	79
Figura 28. Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos polímeros HMIP-S (a e b), HNIP-S (c e d). As imagens foram ampliadas em 500 e 20.000 vezes.	79
Figura 29. Efeito do tempo na capacidade de adsorção de CAF pelos MIPs/NIPs.	81
Figura 30. Dados experimentais obtidos para construção das Isoterma de adsorção do dos MIPs/NIPs radicalares híbridos.	83
Figura 31. Isotermas de adsorção dos HMIP/HNIP (a) HMIP-S e HNIP-S, (b) HMIP-B e HNIP-B e (c) HMIP-P e HNIP-P com os ajustes para os modelos descritos na Tabela 19.	85
Figura 32. Dependência entre o a adsorção em diferentes pH de percolação da amostra.	88
Figura 33. Estudo do solvente de dessorção da CAF no HMIP-S.	89
Figura 34. Separação cromatográfica (□) HMIP-S, (□) HNIP-S e (□) Injeção direta com a mistura ternaria CAF, TEB e TEF.	90
Figura 35. Curva de <i>breakthrough</i> empírica para o HMIP-S como fase sólida.	90
Figura 36. Os ciclos de regutilização do HMIP-S de CAF.	91
Figura 37. (a) GL-HMIP entre as placas de vidro e (b) discos ligantes destacados.	98
Figura 38. Montagem do dispositivo DGT.	100
Figura 39. Gráfico de sorção de CAF em membranas de 5% e 10%.	104

Figura 40. Gráfico de Pareto dos fatores estudados.	105
Figura 41. Massa dessorvida em função do solvente.....	106
Figura 42. Massa dessorvida de CAF para diferentes pHs.	106
Figura 43. Massa de CAF dessorvida empregando-se diferentes volumes de solvente.	107
Figura 44. Massas dessorvidas de acordo com o número de eluições.	107
Figura 45. Massas de CAF dessorvidas empregando-se diferentes tempos de eluição.	108
Figura 46. Gráfico de Pareto dos fatores estudados.	109
Figura 47. Superfície resposta dos fatores estudados.	110
Figura 48. Massa de CAF em GL-HMIP por tempo de contato.	111

Capitulo 1 - Introdução e Objetivos

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

O acelerado desenvolvimento tecnológico, científico e industrial das últimas décadas promoveu o surgimento de inúmeras novas substâncias oriundas da atividade industrial consideradas essenciais para manutenção da qualidade de vida da população. O advento dessas substâncias, também, acarretou na formação de uma grande quantidade de resíduos e efluentes que possuem alto potencial de contaminação ambiental. A inserção dessas espécies químicas nos diversos compartimentos ambientais podem ocorrer, por várias vias, sendo que a principal refere-se ao aporte ilegal do esgoto doméstico na sua forma tratada ou bruta¹.

Esses contaminantes vêm sendo alvos de vários estudos da comunidade científica por não serem, sistematicamente, monitorados e, também, por não possuírem legislação regulatória ambiental correspondente². Esses compostos são denominados de contaminantes emergentes (CE) e são definidos como substâncias ou microrganismos cuja ocorrência ou relevância no ambiente foi constatada, recentemente, porém seus potenciais efeitos ecotoxicológicos ainda permanecem incertos^{3,4}. Ademais, a definição de CE não se restringe apenas às substâncias recentemente produzidas, visto que as mesmas podem estar relacionadas a uma reinserção acumulada de vários anos. Assim, a detecção do CE pode, então, ser conduzida através de métodos analíticos hábeis, para identificar às baixas concentrações difundidas, frente às inúmeras espécies químicas componentes da matriz ambiental^{4,5}.

Pesquisas recentes apontaram a necessidade extrema de monitorar e estudar os efeitos de contaminação pelos CEs, em águas superficiais, diante dos seus potenciais riscos toxicológicos ao ecossistema e à biota e, ainda, pelo fato de que essa matriz ambiental é a principal fonte de água potável do mundo^{5,6}.

Uma opção promissora para o monitoramento dos CEs, em águas superficiais, é o uso de substâncias indicadoras, ou seja, espécies químicas traçadoras da atividade antrópica que, quando presentes, indicam a possível presença de outros CEs^{7,8}. A escolha de um traçador adequado deve levar em consideração o grau de consumo regular daquela espécie química por parte da população e a sua transferência de massa entre os compartimentos ambientais. Nesse sentido, diversos estudos têm utilizado a cafeína (CAF) como um consolidado indicador de contaminação antrópica por ser, constantemente, lançada no meio ambiente devido ao seu alto consumo em alimentos, bebidas e medicamentos^{6,9}.

Atualmente, a determinação de CAF, em águas superficiais, pode ser efetuada por meio de técnicas espectrofotométricas e eletroquímicas, todavia, os métodos predominantes são os conduzidos por técnicas hífenadas de cromatografia aliadas à espectrometria de massas ^{10,11}. Portanto, seja qual for o protocolo de determinação empregado, há uma necessidade de se aplicar estratégias de separação da CAF nas amostras que, normalmente, contemplam etapas de extração e/ou pré-concentração, a fim de eliminar os interferentes (*clean up*) ou concentrar o analito.

Ainda, com relação à CAF há um grande desafio analítico para desenvolver estratégias seletivas à sua separação em águas superficiais, devido à sua intensa complexidade e variabilidade de componentes, aliada às concentrações extremamente baixas de CAF (ordem de $\text{ng-}\mu\text{g L}^{-1}$) já relatadas em diversos estudos ¹². Nesse sentido, estratégias de separação têm sido intensamente estudadas, no entanto, a extração por meio da utilização de fases sólidas adsorventes foram as mais empregadas. Dentre os métodos de extração, os amplamente utilizados são: a extração em fase sólida (SPE) e os protocolos seletivos de separação *in situ* por amostragem ambiental passiva ⁵.

Por conseguinte, seja qual for a estratégia de separação abordada, faz-se necessário empregar fases sólidas que possuam seletividade e sensibilidade adequadas para identificar o analito de estudo frente as outras espécies que possam estar presentes na matriz. Nesse contexto, o desenvolvimento de materiais com alta seletividade é de alta importância analítica.

Dentre os materiais com eficaz desempenho em extração, destacam-se os Polímeros Molecularmente Impressos (MIP, do inglês, *Molecularly Imprinted Polymers*), que têm sido extensamente utilizados como fases extratoras, quando altos níveis de seletividade e especificidade são requeridos para serem determinados ¹². Diante da versatilidade e direcionamento da manufatura do material ao analito de interesse, os MIP podem ser aplicados em diferentes protocolos de extração, como a SPE e a amostragem passiva, desde que os parâmetros de síntese e aplicação sejam previamente estudados e delimitados, para atingirem uma determinação efetiva e confiável¹³.

Considerando esses aspectos, a presente tese de doutorado teve como objetivo geral avaliar diferentes procedimentos de síntese de MIPs, a fim de obter uma fase sólida, com alta seletividade, para extrair a CAF, em águas superficiais, e aplicar o referido material em dois diferentes métodos de extração: o de SPE e o de amostragem passiva por Difusão em Filmes Finos por Gradiente de Concentração (DGT, do inglês,

Diffusive Gradients in Thin-films). Portanto, os objetivos específicos desta presente tese estão indicados abaixo:

- Sintetizar MIPs híbridos (orgânicos-inorgânicos) para a CAF, avaliando diferentes processos de síntese: polimerização por condensação sol-gel e sol-gel, em superfície de sílica, polimerização via radicais livres por suspensão, precipitação e bulk.
- Caracterizar os materiais sintetizados por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), infravermelho (FT-IR), análise termogravimétrica (TGA) e adsorção de nitrogênio (BET).
- Estudar parâmetros cinéticos, termodinâmicos e de isotermas de adsorção, a fim de verificar as interações entre a CAF e os MIPs;
- Avaliar a seletividade, por meio de estudos adsortivos dos MIPs sintetizados, frente aos polímeros controles não impressos (NIP, do inglês, *Non-imprinted Polymer*) e em comparação aos análogos estruturais da CAF.
- Otimizar o protocolo de SPE, utilizando o MIP como fase extratora e aplicar o método de preparo de amostra estabelecido, a fim de extrair a CAF em amostras de águas superficiais.
- Avaliar as propriedades ligantes dos MIPs sintetizados e sua adequabilidade, objetivando produzir membranas difusivas de amostradores passivos de DGT, bem como determinar os coeficientes de difusão da CAF para as membranas.
- Desenvolver amostradores passivos, baseados na técnica DGT, com enfoque em compostos orgânicos (o-DGT, Amostrador Passivo de Gradientes Difusivos em Filmes Finos para compostos orgânicos), utilizando o MIP sintetizado como fase ligante do amostrador.
- Aplicar os amostradores o-DGT, para extrair a CAF presente em amostras de águas superficiais.

Para uma melhor compreensão das várias etapas experimentais realizadas, neste trabalho, a presente tese foi dividida em seis capítulos. O primeiro apresenta uma breve introdução do assunto acompanhada dos principais objetivos. Já, o segundo faz uma breve revisão da literatura acerca dos aspectos principais que permeiam a presente tese, abordando a temática ambiental dos CEs e a CAF, além de aspectos sintéticos e de aplicação dos MIPs a procedimentos de extração.

Coube ao terceiro capítulo apresentar a primeira e etapa experimental que compreende a síntese de MIPs para a CAF, baseada no processo sol-gel, avaliando sua eficiência de extração e seletividade. O capítulo 4 aborda a produção do MIP pela

síntese radicalar híbrida, testando três diferentes métodos (bulk, precipitação e suspensão) bem como o desenvolvimento do método de preparo de amostra para extrair a CAF presente em águas superficiais. O capítulo 5 aborda os aspectos principais da utilização do MIP como fase ligante, no amostrador passivo o-DGT e, ainda, a construção do dispositivo e estudos de aplicação para extrair a CAF em amostras de água de torneira e de águas superficiais naturais. E, por fim, o capítulo 6 aponta as conclusões gerais dos estudos desenvolvidos por este trabalho.

Capítulo 2 - Revisão Bibliográfica

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

O aumento da contaminação dos corpos hídricos vem sendo motivo de preocupação em nossa sociedade, visto que os baixos índices de qualidade da água limita o desenvolvimento social e econômico de um país ⁵. Recentemente, um novo grupo de substâncias vêm sendo encontradas, em diversos compartimentos aquáticos, principalmente, nas águas superficiais, motivando diversos estudos de monitoramento ambiental, tendo em vista a importância dessas matrizes. Esse grupo de substâncias denominado de CEs é composto de espécies químicas provenientes do desenvolvimento de produtos manufaturados, objetivando proporcionar melhor qualidade de vida à população. Pode-se citar como exemplos de CEs os fármacos, os produtos de higiene pessoal e seus metabólitos, alguns interferentes endócrinos, hormônios, surfactantes, compostos perfluorados, retardantes de chama, aditivos, agentes industriais e aditivos da gasolina, bem como seus produtos de transformação ¹⁴.

Diante do uso cotidiano, a maioria desses compostos são, constantemente, reinseridos nos corpos aquáticos e grande parte, ainda, não está incluída em programas oficiais de avaliação da qualidade ambiental ⁷. Além disso, aspectos como o comportamento ambiental, destino e efeitos ecotoxicológicos, também, não estão completamente elucidados e podem representar sérios riscos à saúde humana e/ou animal em razão de sua exposição ¹⁵. Assim, essas substâncias podem se tornar futuros candidatos à regulamentação, dependendo dos resultados de estudos de ecotoxicidade humana e ambiental ¹⁶.

Alguns CEs podem ocasionar diferentes danos ao meio ambiente e aos seres vivos, mesmo em baixas concentrações, até ng L^{-1} ⁷. Considerando a exposição dos seres humanos aos CEs, deve-se dar atenção especial às espécies difundidas em águas superficiais, uma vez que essa matriz é a principal fonte de abastecimento de água potável para a população mundial. Os CEs têm sido encontrados em águas superficiais de diversos países, incluindo o Brasil ^{7,8}.

Quanto à contaminação das águas superficiais pelos CEs, pode-se classificar as fontes de inserção em pontuais e difusas. As fontes pontuais relacionam-se à contaminação direta por efluentes industriais, esgotos domésticos e enchentes. Enquanto que as difusas associam-se à deposição atmosférica, escoamentos superficiais, lixiviação, dentre outros ¹⁷. Os CEs podem ainda apresentar mobilidade e

persistência, em diferentes estratos ambientais, conforme o que será esquematizado pela Figura 1.

A Figura 1 ilustrará a condução/transporte dos CE, mediante diferentes rotas ambientais, até alcançar os corpos hídricos superficiais, considerando a área rural e a urbana. No entanto, as fontes mais significativas de inserção do CE, no meio ambiente, estão associadas aos mecanismos de descarte, higienização e excreção comumente praticados nos grandes centros urbanos¹⁸.

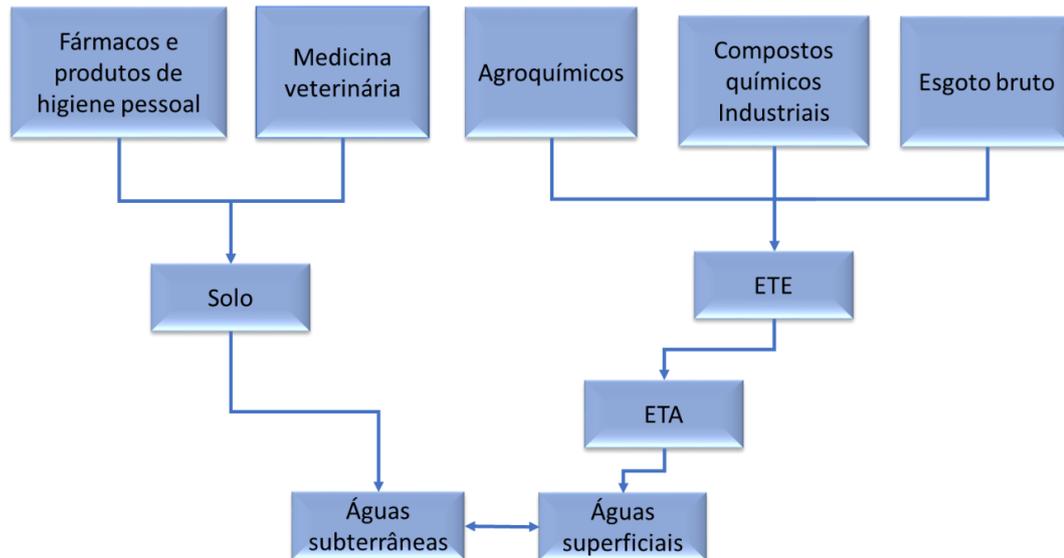


Figura 1. Rotas de entrada de CE em águas superficiais. Adaptado de Canela e colaboradores⁴.

O alcance dos CE, nas águas superficiais, também, pode ocorrer por meio do transporte em massa dessas espécies presentes nos efluentes dessa matriz ambiental. Consta-se que no Brasil apenas 46,2 % do esgoto é coletado e desse total, 37,8 % é submetido a tratamento¹⁹. Pode-se depreender que vários dos problemas associados à ocorrência dos CE, em águas superficiais, ocorre pelo descarte indevido e/ou tratamento inadequado do montante não contabilizado. Observa-se, também, que o índice de CE é menor em países ou regiões que mantêm elevados índices de coleta e tratamento do esgoto¹⁷. Com relação ao Distrito Federal (DF), 100% do esgoto coletado é, posteriormente, submetido a tratamento¹⁹. Partindo dessa premissa, considera-se que dados gerados sobre a presença de CE, nas águas superficiais do DF, podem servir como referência da eficiência do tratamento de esgoto no Brasil⁶.

Considerando os métodos tradicionais aplicados nas estações de tratamento de esgoto (ETE), sabe-se que alguns compostos não são totalmente removidos ou degradados⁵. Diante disso, alguns estudos ambientais utilizam-se de estratégias para estabelecer indicadores de contaminação antrópica que, normalmente, são espécies químicas estáveis que permanecem íntegras aos tratamentos convencionais das ETEs

e/ou que seus metabólitos são, sistematicamente, conhecidos. Essas substâncias são denominadas traçadoras da atividade antrópica ou indicadores de contaminação cruzada, cuja presença no meio ambiente evidencia a possível presença de outros CEs²⁰.

A escolha de um traçador adequado deve levar em consideração, além dos aspectos já mencionados, o consumo regular por parte da população e a possível transferência de massa da espécie química e/ou de metabólitos do esgoto sanitário para os compartimentos aquáticos. Nesse sentido, um dos indicadores mais utilizados para essa estratégia é a CAF. Desde a década de 70, a CAF vem sendo detectada em inúmeros trabalhos que monitoram a qualidade das águas^{5,6,16,17,21}, além de ser correlacionada, diretamente, com a atividade antrópica⁷, sendo considerada um dos mais eficientes indicadores de contaminação conhecidos.

2.2 CAFEÍNA

A CAF (1,3,4 - trimetilxantina) (Figura 2) é um alcaloide pertencente ao grupo das metilxantinas e encontra-se presente em mais de 60 espécies de plantas^{22,23}. É um estimulante presente em alimentos, bebidas e fármacos, fazendo parte da vida do homem contemporâneo. Estima-se que a média global de consumo gira em torno de 70 mg/pessoa/dia, sendo variável de um país para o outro^{24,25}. No Brasil, há um alto consumo, em torno de 115 mg/ pessoa/dia, principalmente, pela ampla comercialização de bebidas típicas como o café e o guaraná⁴.

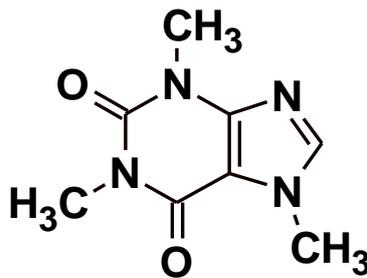


Figura 2. Estrutura molecular da CAF

Registra-se que a CAF é absorvida e distribuída facilmente pelo organismo passando, rapidamente, para o sistema nervoso central, ocasionando um estado de alerta de curta duração²⁶. O consumo moderado de CAF não está associado a nenhum risco à saúde. Há relatos restritivos para alguns casos, em especial, durante a gestação ou por indivíduos com problemas de hipertensão²⁷. Em torno de 95 % da CAF ingerida é metabolizada pelo fígado e apenas de 1 a 5% é excretada pela urina. Contudo, quantidades consideráveis de CAF são introduzidas em corpos aquáticos,

diariamente, através do esgoto ²⁸. Diante disso, além de um eficiente indicador antrópico, estudos apontam que a CAF, também, pode ser empregada como indicador da qualidade das águas, visto que é possível estimar a atividade estrogênica de amostras de água através da quantificação cruzada desse analito¹⁷.

Assim, a estratégia de utilizar a CAF como indicadora antrópica já vem sendo empregada em países que possuem eficazes métodos de tratamento de esgoto. Os protocolos empregados utilizam a CAF para indicar a contaminação de águas por esgoto doméstico e por potenciais vazamentos da rede coletora ²³. Além disso, o monitoramento da concentração da CAF permite rastrear a fonte de contaminação, comprovando se é proveniente da ação humana ou de animais. Por esse motivo o uso da CAF, como traçador de contaminação, é mais eficaz que alguns marcadores biológicos comumente empregados para avaliar a qualidade da água, como a *Escherichia Coli* (*E. Coli.*) ²⁹. A *E. Coli* avalia a qualidade microbiológica e a poluição fecal da água, no entanto é ineficiente para indicar as potenciais vias de contaminação ^{20,31}.

As propriedades físico-químicas da CAF que contribuem para se comportar como um traçador químico adequado, visto sua estabilidade, em condições ambientes, é sua solubilidade razoável em água (11 g L^{-1}), baixo coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{ow} = 0,01$) e, também, pela sua baixa volatilidade ³². Além disso, apresenta potencial de degradação lento no ambiente aquático ³².

No Brasil, a presença de CAF, em águas superficiais, é notoriamente esperada, tendo em vista a situação precária de saneamento básico, em especial, nas grandes cidades que, nas últimas décadas, tiveram um crescimento populacional desordenado sem se adequar a um sistema de esgotamento sanitário apropriado para receber maiores volumes de esgoto¹⁷. Como consequência, muitas vezes, evidenciou-se o descarte indevido e o mau gerenciamento da disposição dos esgotos nos mananciais de água doce.

Estudos realizados em 22 capitais brasileiras, incluindo o DF, constataram que a CAF foi encontrada numa frequência de 93% das amostras analisadas, em concentrações variando de 0,14 até $18,80 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ⁶. Quantificações da CAF, nas águas do Rio Monjolinho (São Paulo, Brasil) identificaram a presença de CAF em 92% das amostras coletadas em concentrações de até $129,56 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ⁹. A CAF, também, foi detectada em todas as amostras no Rio Beiyun, na China, em concentrações entre 31,3 a $2,71 \text{ ng L}^{-1}$ ³³. Um estudo realizado nos 109 principais rios japoneses e alguns afluentes, constatou que a CAF foi detectada em concentrações de até $2,400 \mu\text{g L}^{-1}$, em

87% das amostras analisadas em águas superficiais³⁴. Outros estudos realizados em diferentes países, detectou a quantificação da CAF em águas marinhas, valores na faixa de 0,015 a 0,58 $\mu\text{g L}^{-1}$ ³⁵⁻³⁷. Dessa maneira, para alcançar os níveis de concentrações relatadas, faz-se necessário aplicar os métodos analíticos para a determinação de CAF, durante as etapas de extração, a fim de disponibilizar esse analito para detecção em níveis precisos³⁵⁻³⁷. Além disso, devem-se considerar todas as propriedades de aplicação da matriz, como: variabilidade de componentes, polaridade do meio, pH e força salina, para que se possa estabelecer um procedimento eficaz no preparo de amostra⁹.

2.2.1 Preparo de amostra de cafeína em matrizes aquosas

Os métodos analíticos dedicados à determinação da CAF, em amostras ambientais, são altamente dependentes de uma separação cromatográfica eficaz, de modo a atingir os baixíssimos limites de detecção, necessários para a obtenção de uma quantificação adequada^{10,20}. No entanto, todos os protocolos empregados para a determinação podem ser prejudicados, se houver um preparo inadequado ou ineficiente da amostra, visto que essa etapa é responsável por mais de 50% dos erros de quantificação numa análise química.

Um preparo de amostra eficaz deve ser capaz de eliminar os interferentes e/ou concentrar os analitos, para se obter um extrato mais limpo, de modo a submetê-lo à separação cromatográfica ou, dependendo da limpeza do extrato e seletividade do detector, submeter o próprio extrato para a quantificação^{38,39}. Nesse sentido, normalmente, os métodos analíticos desenvolvidos requerem instrumentação avançada que resultam em alto custo analítico⁴⁰, visto que a complexidade da matriz reduz a característica da maioria dos métodos.

Com relação aos preparos de amostras empregados, em análises ambientais, a SPE é a mais utilizada, devido à efetividade da técnica em extrair compostos de suas matrizes, mediante a afinidade química do analito com os grupos químicos que compõem o material adsorvente⁴¹. São empregados diversos materiais a depender das propriedades químicas do analito e/ou matriz em estudo.

2.2.1.1 Extração em fase sólida (SPE)

A SPE consiste numa técnica de separação sólido-líquido que apresenta propriedades de extração similares à cromatografia líquida clássica de baixa pressão. A fase sólida extratora (fase estacionária) apresenta-se compactada num cartucho, entre duas barreiras porosas (*fritz*), que funciona como filtro das grandes partículas da amostra. Logo, o cartucho de extração atua como uma coluna cromatográfica aberta⁴².

A quantidade de material a ser empregada na extração depende, diretamente, das propriedades químicas do analito/matriz, da concentração do analito, da quantidade de interferentes e da capacidade adsortiva do material ⁴².

Dessa forma, para se conduzir uma extração eficiente, é necessário selecionar o tipo de fase sólida em função das características físico-químicas do analito de interesse. Diversos adsorventes estão disponíveis, comercialmente, dentre eles, destacam-se: carvão ativado, sílica gel, alumina, materiais poliméricos e os baseados em sílica modificada, com cadeia linear de 8 carbonos n-octilsilano (C8), de 18 carbonos n-octadecilsilano (C18) e fases sólidas híbridas como de balanço hidrofílico e lipofílico, HLB (do inglês, *hydrophilic lipophilic balance*), sendo as duas últimas, as mais usadas, atualmente, nos trabalhos que envolvem a separação da CAF em amostras ambientais ^{6,17}.

Os princípios relacionados com a técnica da SPE envolvem a partição e a adsorção de compostos de interesse entre as duas fases: líquida e sólida ⁴⁰. A SPE convencional possui quatro etapas básicas (Figura 3): (1) condicionamento/equilíbrio, para ativar os grupos químicos do material e equilibrar as forças químicas de separação; (2) separação do analito (*loading*) que ocorre por meio da percolação da amostra no material que extrai a espécie química, através da interação do analito com grupos funcionais da fase sólida; (3) lavagem, destinada a remover as impurezas, e (4) eluição, que interrompe a interação química do analito com o solvente, migrando-o para a solução eluente, resultando num extrato pré-concentrado ⁴³. Essas etapas são otimizadas a depender da natureza e propriedades da matriz/analito.

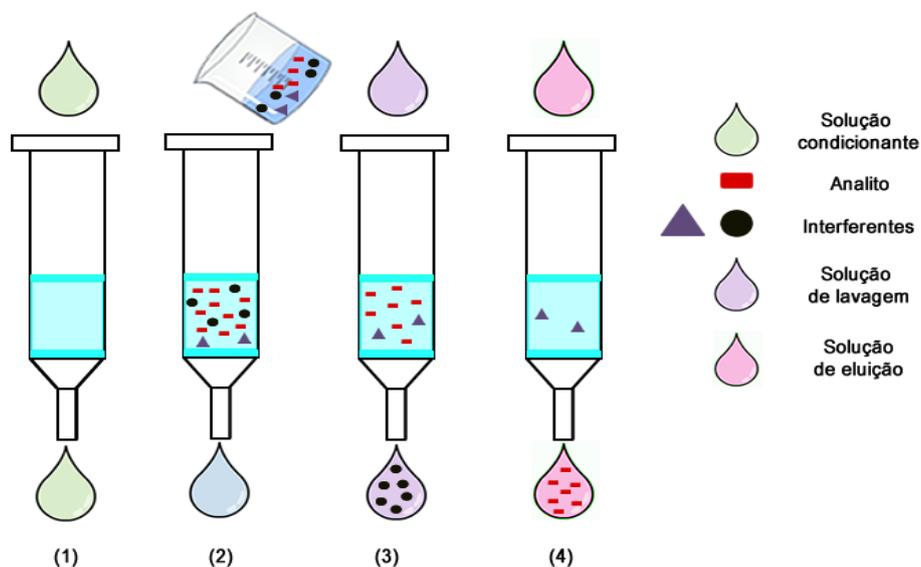


Figura 3. Principais etapas envolvidas na extração em fase sólida (SPE) Adaptado de Dourado ⁴³ (1) condicionamento; (2) *loading* (separação do analito); (3) lavagem e (4) eluição do analito.

Vários trabalhos da literatura desenvolveram métodos com preparo de amostras baseado em SPE, para a determinação de CAF em diferentes corpos hídricos^{6,16,17,20}. Um exemplo dessa estratégia foi o trabalho desenvolvido por Paíga e colaboradores²⁰ que empregou a fase sólida reversa (Strata-X), a fim de extrair a CAF presente na água do mar. Os referidos autores utilizaram a CAF como um indicador antrópico para monitorar a contaminação da água do mar por descarga indevida de efluentes. O método apresentou desvio padrão relativo (*RSD*, do inglês, *relative standard deviation*) < 2,0 % e limite de detecção (LOD, do inglês, *limit of detection*) da ordem de 0,8 – 1,02 ng L⁻¹. Tais parâmetros analíticos possibilitaram a realização de ensaios para estimar a toxicidade da CAF, no ambiente aquático, e foram propiciados diante do alto fator de concentração, de 500 vezes, obtido através do método de preparo da amostra. Esse efeito evidencia a alta dependência dessa etapa para alcançar as baixas concentrações requeridas ao monitoramento ambiental.

Contata-se que foram analisadas em torno de 100 amostras, nas quais foi possível determinar a CAF com adequados parâmetros de exatidão, precisão nos ensaios de fortificação (> 98 %) e para as quantificações das amostras (na ordem de 18 a 525 ng L⁻¹). Esse trabalho forneceu dados importantes acerca do descarte ilegal de esgoto nas águas, em Portugal, consolidando a eficiência da CAF como marcador químico de contaminação antropogênica.

Um estudo conduzido, no Brasil, por Santana e colaboradores³ buscou avaliar a qualidade das águas superficiais do Lago Paranoá – DF. Tal trabalho monitorou a presença de vários contaminantes emergentes nessa matriz e, dentre eles, a CAF. Foi possível determinar as concentrações da CAF, em diversos pontos amostrais, nas concentrações de 2 – 85 ng L⁻¹. Devido à amostragem sazonal, foi possível atribuir e indicar em quais pontos da matriz amostral o tratamento de efluentes estava ocorrendo de maneira mais eficaz, bem como estimar os riscos toxicológicos dos contaminantes ao ecossistema aquático. Foram quantificadas concentrações de CAF nas águas, para o consumo de 2 – 16 ng L⁻¹, indicando maior distribuição desse contaminante nos corpos hídricos. Ainda, foi constatado um índice mais adequado da qualidade hídrica, no DF, quando comparada às quantificações, em outros mananciais brasileiros, que registraram concentrações de 2000 ng L⁻¹ de CAF em águas para consumo humano^{6,44}

Esses trabalhos apontaram breves exemplos de quantificações da CAF que possibilitaram indicar um panorama da qualidade da água e sua importância e funcionalidade como indicador químico. Contudo, a maioria dos estudos utilizam a estratégia de coleta pontual de amostras de água, para posterior submissão ao protocolo analítico desenvolvido em laboratório⁴⁵. Para isso, são necessárias coletas de

grandes volumes de água, a fim de alcançar uma detecção mensurável ⁴⁶. A amostragem pontual, apesar de ser muito utilizada, pode indicar erros de estimativas, visto que descreve, apenas, a concentração momentânea do composto na matriz, não permitindo a avaliação da variabilidade de concentração da espécie e, também, a indicação de inserção do poluente de forma isolada ⁴⁷. Além disso, a depender das propriedades químicas do analito, pode ocorrer perdas de concentração decorrentes dos recipientes utilizados para a amostragem e/ou estocagem ⁴².

Ainda assim, a junção da amostragem pontual, com posterior detecção, em laboratório pode propagar mais erros na análise química, visto ser necessário submeter a amostra coletada à elaboração de uma subamostra, amostra laboratorial e, por último, o preparo da amostra⁴⁸. Dessa maneira, para contornar esses inconvenientes, a amostragem passiva apresenta-se como uma alternativa promissora ao monitoramento ambiental da CAF, em água, pois pode proporcionar a separação das espécies *in situ*, possibilitando suprimir ou eliminar algumas etapas entre a amostragem e o preparo da amostra, proporcionando maior seletividade de separação, redução das perdas do analito, aumento da precisão analítica e melhor detectabilidade da espécie química ⁴⁹.

A amostragem passiva, portanto, independe da coleta de amostras e, ainda, minimiza as perdas ocorridas na etapa de amostragem, fazendo dessa abordagem uma opção mais vantajosa, prática e exata, para a determinação de CEs ⁵⁰. Ademais, nesse protocolo, pode-se, também, realizar a pré-concentração do analito, aprimorando os limites de detecção e reduzindo possíveis interferências químicas, diante do tipo de material amostrador empregado ^{50,51}.

2.2.2.2 Amostrador passivo de difusão em filmes finos por Gradiente de concentração (o-DGT)

De uma forma geral, o princípio de funcionamento dos dispositivos, baseados na amostragem passiva, está relacionado à livre migração dos compostos de interesse de um meio investigado para um meio coletor ⁵². A migração das espécies ocorre a partir de uma diferença dos potenciais químicos entre esses meios. Assim, quando o amostrador é aplicado no meio, a difusão do analito ocorre através de uma barreira ou membrana difusiva, bem definida, que regula a migração até ser sorvido por uma membrana que possui um material ligante ⁵³.

Nas análises ambientais, a amostragem passiva proporciona diversas vantagens, tais como: expressiva redução de custos com transporte, solventes, reagentes e, ainda, através da formação de resíduos químicos e da exposição do

analista aos riscos de saúde. Sob esse aspecto, tais vantagens são concordantes com muitos dos princípios da química analítica verde ^{52,54}

Diferentes amostradores vêm sendo utilizados para a amostragem passiva de alguns CEs, dentre eles, os mais utilizados são: o POCIS (do inglês, *Polar Organic Chemical Integrative*) e o *Chemcatcher* (do inglês, *Passive Sampler using Empore disk*). Todavia, apesar da eficiência, esses amostradores apresentam a desvantagem de necessitar de calibração prévia, pois são altamente dependentes das condições hidrodinâmicas, como a vazão da água, podendo ser afetada por outros parâmetros ambientais, como o pH, a salinidade/força iônica, a matéria orgânica dissolvida, sendo possível resultar numa incerteza de medição considerável ^{36,39,50,52}.

Outros novos dispositivos passivos de amostragem de água são, também, necessários para o monitoramento ambiental, sob condições de mudança de ambientes aquáticos, para fornecer dados mais confiáveis. Uma nova alternativa e que deve ser relevante na determinação *in situ* de CEs, sem a necessidade de calibração, é o método de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT, do inglês *diffusive gradients in thin films*) ⁵⁴. O DGT foi desenvolvido por Davison e Zhang, em 1994, para a determinação *in situ* de espécies lábeis inorgânicas, em nível traço, e que, diferentemente dos outros amostradores, não necessitava do valor de vazão do corpo hídrico investigado para quantificar o analito ⁵⁴.

A teoria de amostragem estabelecida pelo DGT é baseada no mecanismo de transferência de massa do analito por diferença de concentração, descrita pela primeira lei de difusão de Fick. A referida lei de difusão prediz que os analitos migram de uma região mais concentrada a partir da camada de difusão, composta por um filtro de proteção e um gel difusivo (Figura 4), para uma região mais diluída e composta pelo gel de ligação. Assim, o analito se acumula nesse compartimento e o gradiente de concentração estabelecido gera um fluxo de espécies químicas que estabiliza a concentração por toda extensão da solução ⁵⁴. No gel de ligação, normalmente, são imobilizadas fases ligantes, que podem ser materiais sólidos adsorventes, capazes de se ligar ao analito de interesse ⁵⁴.

Fisicamente, o DGT consiste num pistão de apoio e uma tampa, confeccionados a partir de um polímero de ABS (Acrilonitrila Butadieno Estireno), (Figura 4). A tampa contém uma janela com 2,5 cm de diâmetro por onde os analitos se difundem do meio amostrado para a fase ligante. Entre a tampa e a base são adicionadas três membranas: (i) membrana filtrante que protege as demais fases de partículas mais grossas e que podem causar algum dano; (ii) fase difusiva formada por gel de agarose ou de poliacrilamida, que são materiais permeáveis e agem, através do

controle da difusão das espécies de interesse, gerando gradientes de concentração e (iii) fase ligante, composta por uma membrana que imobiliza o material adsorvente capaz de extrair as espécies de interesse por meio da pré-concentração do analito ^{36,39,50,52}. O material utilizado para compor a fase ligante deve apresentar alta capacidade de adsorção e fácil extração do analito ^{50,47}.

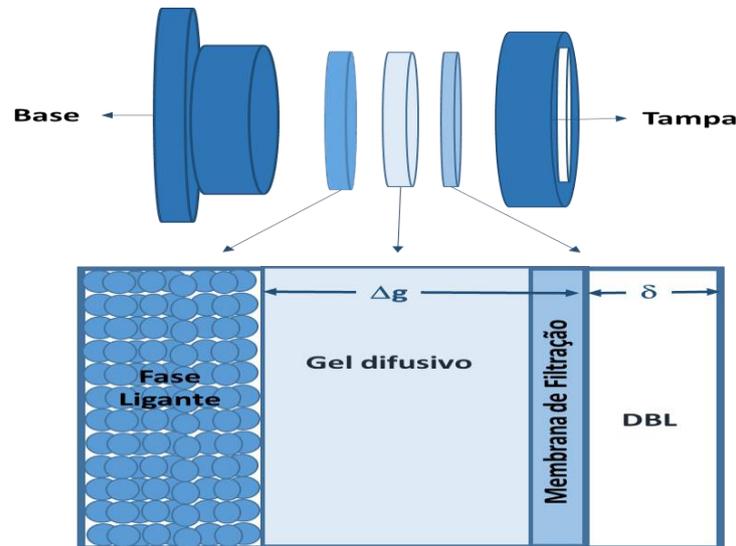


Figura 4. Representação do dispositivo o-DGT contendo todas as membranas componentes do sistema. DBL, do inglês *Diffusive Boundary Layer* (adaptado Chen ⁵⁰)

Após um determinado tempo (t) de exposição, o analito é removido da fase ligante, por meio de um eluente adequado, e, posteriormente, determinado pela técnica analítica estabelecida ⁴⁷. Para calcular a concentração do analito, utiliza-se a relação de transferência de massa demonstrada na Equação 1:

$$F = \frac{D(C_b - C')}{(\Delta g + \delta)} \quad (1)$$

Com relação à equação anterior, o D corresponde ao coeficiente de difusão do analito na membrana difusa, o C_b à concentração do analito em solução, o C' representa a concentração do analito livre nas fronteiras do material ligante, o Δg representa a espessura da membrana de difusão e δ a espessura da camada limite DBL que é a fronteira entre o dispositivo e a solução (Figura 4). O fluxo (Eq. 2) pode, ainda, ser definido como a quantidade de massa transportada por unidade de tempo numa área específica, conforme equação abaixo⁵¹:

$$F = \frac{M}{At} \quad (2)$$

Em que M = a massa do analito, A = a área da abertura do DGT e t o tempo de contato.

Combinando as Equações 1 e 2, obtém-se o valor da concentração C_b na matriz ⁵²:

$$C_b = \frac{M(\Delta g + \delta)}{DA\tau} \quad (3)$$

A dispensa de calibração para o uso do DGT, em ambientes aquáticos, está relacionada ao fato de que a difusão do analito da matriz, para dentro do amostrador DGT, acontece, exclusivamente, pelo gradiente de concentração estabelecido na membrana difusiva. Já a espessura δ varia de acordo com as condições hidrodinâmicas do ambiente. Portanto, para obter resultados independentes a espessura Δg deve ser muito maior que a DBL. Dessa forma, o valor da DBL pode, então, ser desconsiderado nos cálculos ⁵³. Nesse contexto, a concentração do analito (C_b) na matriz pode ser definida, de acordo com a Equação abaixo ⁵¹:

$$C_b = \frac{M\Delta g}{DA\tau} \quad (4)$$

O coeficiente de difusão (D) é calculado através do plote de dados empíricos que formam uma curva de tempo de contato, versus a massa recuperada. Já a forma D estará descrita pelo coeficiente angular da reta k , conforme a Equação 5 abaixo ⁵¹:

$$D = \frac{k\Delta g}{C_b A} \quad (5)$$

A massa (M) calculada a partir do analito difundido na membrana é através da relação estabelecida na Equação 6:

$$M = \frac{C_e(V_e + V_g)}{f_e} \quad (6)$$

Quanto à formula acima, a C_e refere-se à concentração do analito, retida na membrana de ligação e quantificada após a dessorção; o V_e ao volume do eluente, o V_g ao volume da membrana de ligação e o f_e refere-se ao fator de eluição.

Para estimar o valor de f_e , emprega-se a Equação 7, apresentada abaixo. Esse valor prediz a razão constante entre a massa do analito eluída e a retida ⁵¹:

$$f_e = \frac{V_e \cdot C_e}{(C_i - C_f)V_{imersão}} \quad (7)$$

Na relação acima, o C_i representa a concentração inicial e conhecida do analito e o C_f a concentração do sorvido do sobrenadante de sorção. As aplicações iniciais nos primeiros anos do DGT se dedicaram a determinar espécies inorgânicas, tanto é que os valores dos coeficientes de difusão, para as espécies inorgânicas investigadas, em meios aquosos, encontram-se tabelados por alguns autores ^{47,55}. Inicialmente, a determinação do coeficiente de difusão era o único parâmetro que precisava ser determinado, experimentalmente, para a determinação de espécies inorgânicas. No

entanto, como a utilização do dispositivo DGT, para a determinação de tais analitos se tornou fortemente difundida e consolidado.

Com relação à utilização do dispositivo DGT, para a determinação de espécies orgânicas (o-DGT), é uma vertente ainda pouco explorada. Alguns materiais vêm sendo estudados como fase ligante, nesses dispositivos e, particularmente, tal estratégia apresenta-se desafiadora pelo fato de a fase sólida ter que apresentar compatibilidade química ao gel formador da membrana. Assim, vários materiais adsorventes, normalmente, aplicados em procedimentos SPE, vêm sendo estudados como potenciais fases ligantes, sendo: HLB, C18, sílica, dentre outros ^{49,50,56-58}.

Um exemplo dessa aplicação é o trabalho de Chen e colaboradores ⁵⁰ que construíram e aplicaram em escala laboratorial e, em campo, um dispositivo o-DGT, para extrair o antibiótico sulfametoxazol em águas naturais. Os autores empregaram como fase ligante a resina XAD 18 e, como materiais, para compor a membrana, foram testados dois géis: de agarose e de poliacrilamida. Ambos os géis, também, foram empregados na preparação da fase difusiva. Os autores relataram que a sorção do composto, na fase ligante, aumentou com o tempo e que a resina XAD18 apresentou melhor eficiência de separação do composto quando imobilizada no gel de agarose. O analito apresentou um coeficiente de difusão de $3,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 20 °C. Para a aplicação do dispositivo o-DGT, em campo, foram determinadas concentrações de sulfametoxazol, em águas superficiais, na ordem de $7,6 \text{ ng L}^{-1}$. Esse trabalho demonstra a utilidade de resinas hidrofóbicas ao extrair compostos orgânicos e sua devida adequabilidade à membrana de agarose, resultando num amostrador de baixo custo e de alta eficiência analítica ao detectar as concentrações da ordem de ng L^{-1} .

A partir dos estudos da dispersão e da transferência de vários antibióticos em esgotos, Chen e colaboradores ⁵⁸ aplicaram o amostrador o-DGT, construído no trabalho anterior, para extrair dez potenciais antibióticos presentes, em amostras de influente e efluente de uma ETE, no Reino Unido. A campanha de amostragem foi realizada por sete dias. A partir desses estudos, foi possível encontrar concentrações dos antibióticos 10 a 2800 ng L^{-1} que permitiram delinear a eficiência das condições de tratamento da ETE. Analiticamente, o amostrador diminuiu os limites de detecção por meio da pré-concentração dos compostos *in situ*. Os níveis de concentração medidos, por meio do amostrador o-DGT e pela amostragem convencional, mostraram-se semelhantes, tornando o amostrador mais competitivo, tendo em vista as facilidades em se tratar as amostras

Um dos entraves, ao se adequar fases sólidas às resinas poliméricas é a sua compatibilidade com o gel a ser aplicado. Para isso, Chen e colaboradores ⁵⁹ estudaram

três tipos de sorventes: HLB, Strata-X e XAD18, com o gel de agarose, com o objetivo de determinar 13 compostos em águas, dentre eles: parabens, alquilfenóis e triclosan. Após a avaliação de cada fase ligante, os autores constataram que a resina XAD18 apresentou melhores índices de recuperação do analito. No entanto, a pré-concentração dos compostos foi mais eficiente com a resina HLB. As duas resinas apresentaram compatibilidade ao gel demonstrando-se adequadas como fase ligante no gel de agarose. Os autores aplicaram o amostrador o-DGT, em efluentes e influentes, numa estação de águas residuais, e as concentrações encontradas foram comparadas com amostragem convencional e a pré-concentração por SPE. A amostragem por DGT demonstrou desempenho superior, visto que diminuiu o limite de detecção do método, com pré-concentração de *in situ*. Os níveis de concentração, medidos por meio do amostrador e pela amostragem convencional, foram semelhantes, na faixa de 10 a 1000 ng/L, tornando uma alternativa atraente para o monitoramento ambiental.

Para determinar a presença de retardadores de chama organofosforados, em águas, Zou e colaboradores⁵⁶ aplicaram um o-DGT com HLB, de fase ligante, para extrair alguns compostos dessa classe. Foram observados coeficientes de difusão adequados para diferentes organofosforados que variaram de $4,58$ a $5,87 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, indicando boa adequabilidade do gel/fase ligante ao se ligar aos compostos. Além disso, nessa aplicação do amostrador, o-DGT se apresentou robusto frente às diversas condições ambientais que variavam, constantemente, tais como: pH na faixa de 3,12–9,71, força iônica de $0,1 - 500 \text{ mmol L}^{-1}$ e matéria orgânica dissolvida de $0-20 \text{ mg L}^{-1}$. Todavia, a fase HLB apresentou o inconveniente de ter uma seletividade limitada, contribuindo para a retenção de interferentes durante o processo de amostragem. Tal fato pode prejudicar a recuperação dos compostos e, também, ocasionar erros quanto à precisão e à exatidão das concentrações presentes.

Buscando maior seletividade da fase ligante, Dong e colaboradores (2014)⁶⁰, de forma inovadora, utilizaram um polímero com impressão molecular (MIP, do inglês molecularly imprinted polymer)⁶¹, como fase ligante, para o-DGT e para a extração de 4-clorofenol em água. No caso dos MIPs, o material é produzido com seletividade direcionada à espécie alvo, mediante a presença de cavidades delineadas em nível molecular para o composto. Em comparação ao trabalho anterior, o coeficiente de difusão foi menor de $0,788 \pm 0,040 \text{ } \mu\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$, sendo extraídas concentrações da ordem de 5 mg L^{-1} , dentro da faixa esperada para compostos orgânicos que demonstram alta seletividade de adsorção para o analito. O amostrador apresentou-se robusto frente às condições ambientais da amostra (pH: 3 a 7 e força iônica $0,0001$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Em aplicações *in situ*, de águas residuais e industriais não tratadas e provenientes de uma fábrica de produtos químicos (Liaoyang – China), foi possível detectar concentrações

de $4,6 \pm 0,5 \text{ mg L}^{-1}$. O cálculo foi estimado a partir do tempo de difusão e da massa do analito acumulado no gel de ligação, corroborando com a eficácia e a seletividade de se empregar o MIP como fase ligante em amostradores DGTs.

Em amostras de água, de intensa complexidade e variabilidade, Li e colaboradores (2018)⁶² utilizaram MIP, como fase ligante no DGT, para determinar a ciprofloxacina, em água natural, efluente clínico hospitalar e água de aquicultura em Jinzhou – China. As recuperações de ciprofloxacina, em todas as matrizes, foram adequadas em torno de 96,1 a 102,0 %. O amostrador, também, apresentou robustez adequada e a concentração de ciprofloxacina, em águas naturais, foi estimada em: $0,52 \pm 0,3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, demonstrando a adequabilidade do amostrador o-DGT em pré-concentrar e extrair a ciprofloxacina num baixo nível de concentração.

Assim, a utilização do MIP, como fase ligante no DGT, alia as vantagens gerais da técnica DGT, como a capacidade de pré-concentrar o analito e obter uma concentração média ponderada no tempo, com a seletividade e especificidade do material a um analito alvo. Essa alta seletividade do MIP está aliada às características de produção do material que permitem obter um adsorvente com sítios de ligação específicos para o analito em estudo. O próximo tópico detalhará as principais características acerca da temática de impressão molecular que agregam a alta seletividade aos MIPs.

2.3 POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS

A síntese dos MIPs tem como base os experimentos de Polyakov⁶¹, em 1931, que demonstraram a alta seletividade de um material de sílica em gel para, apenas, uma molécula através de ligações específicas e direcionadas. Em 1949, Dickey⁶³, inspirado na teoria de Linus Pauling, associou o mecanismo de impressão molecular ao que ocorre com o processo de chave-fechadura (enzima-substrato). Nesse contexto, o antígeno se portaria como uma molécula molde (MM) e os monômeros funcionais (MFs) como os anticorpos, que são modelados ao redor dessa molécula. No caso dos monômeros, os mesmos geram no polímero configurações complementares altamente seletivas. Os MIPs apareceram pela primeira vez, na década de 70, quando Wulf e Sarhan⁶⁴ descreveram a síntese de um polímero orgânico com sítios seletivos para a separação enantiomérica de racematos em açúcares, baseados nas teorias descritas por Linus e Dickey. Desde então, esses materiais receberam grande atenção quanto às vantagens de seu mecanismo de reconhecimento molecular.

A alta seletividade do MIP é atribuída à manufatura do material, que é direcionada à molécula de interesse ou para uma molécula similar à de interesse. Em ambos os casos, têm-se uma MM, para formar os sítios de ligação e o desenho da

estrutura que gerará uma cavidade tridimensional adaptável ao extrair a MM nos processos adsorptivos. Os MFs mais utilizados são comumente orgânicos (acrílico ou vinílico) e inorgânicos (ortossilicatos). Essas espécies químicas, normalmente, são misturadas com a MM, em solvente porogênico adequado, formando um complexo estável.

Após o equilíbrio de complexação, a ligação entre os MF é realizada pela adição de um reagente de ligação cruzado (ALC) que conecta todos os monômeros, resultando numa matriz polimérica com macroporos que possuem micro cavidades com estruturas tridimensionais ⁶⁵⁻⁶⁷. A remoção subsequente da MM deixa uma “memória” no polímero resultante que passa a ter cavidades moleculares complementares, quanto à forma, ao tamanho e à posição dos grupos funcionais, permitindo criar um efeito de reconhecimento molecular, como poderemos observar pela Figura 5^{33,36,41}. A capacidade de reconhecimento molecular é avaliada em relação a um polímero controle não impresso (NIP, do inglês *Non-Imprinted Polymer*) e sintetizado da mesma maneira que o MIP, sem a adição da MM⁷².

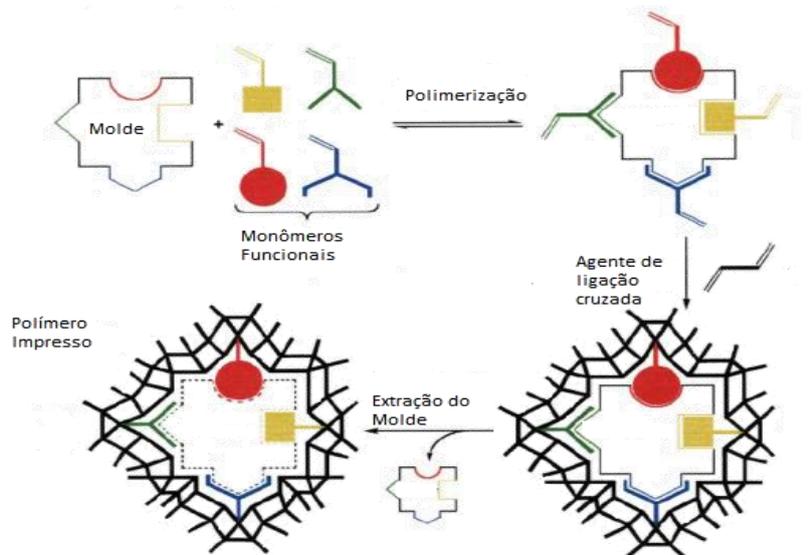


Figura 5. Esquema da síntese de polímero molecularmente impresso (adaptado de Peixoto ⁴⁷).

A síntese dos MIPs, e por consequência o mecanismo de impressão, pode ser conduzida por diferentes abordagens. Essas rotas dependem da natureza das interações entre os MF e a MM, durante a pré-polimerização, e podem ser, principalmente, covalentes e não covalentes ⁶⁵.

A impressão covalente foi proposta, inicialmente, por Wulff e Sarchan ⁶⁴. O MF interage com a MM por meio de ligações covalentes. Dessa forma, após a impressão, os materiais resultantes irão possuir sítios mais seletivos e cavidades tridimensionais mais fidedignas. Entretanto, a alta energia da ligação covalente entre MM-MF requer

procedimentos mais intensos, a fim de remover o que podem afetar a funcionalidade da cavidade. Vale ainda ressaltar que sua aplicabilidade se torna restrita aos analitos que estabeleçam esse tipo de ligação como o MF, sendo necessário que eles pertençam às classes dos álcoois, aldeídos, cetonas, aminas ou ácidos carboxílicos ^{7,73,74}.

Em contrapartida, a impressão molecular não covalente, introduzida por Arshady e Mosbach⁷⁵, tem sido a mais estudada e aplicada, devido à versatilidade das interações entre a MM e os MF como: ligação iônica, íon-dipolo, dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio. Nesse caso, é mais fácil de se remover a MM do polímero, visto que são ligações mais fracas, que possibilita aplicar procedimentos mais simples de remoção, como a extração via solvente. Contudo, algumas limitações, ainda, são pertinentes a esse tipo de impressão, tal como a formação de sítios heterogêneos por ligações não específicas entre MF e ALC. Além disso, é sempre necessário se aplicar um excesso estequiométrico de MF, para que se garanta a formação do complexo pré-polimerização e por consequência maior formação de sítios não seletivos e atribuídos aos grupos funcionais do monômero dispersos pela matriz polimérica ^{65,73,74}.

Portanto, para se produzir um MIP são necessários os seguintes componentes: a MM, MF, ALC e o solvente porogênico. Esses reagentes devem ser avaliados, atentamente, quanto à sua natureza e concentração ^{65,74,76}. A espécie química selecionada como MM deve ser estável às temperaturas aplicadas na síntese ⁷⁷. Já a MF e o MM devem se complexar num solvente que favoreça a formação da ligação entre essas espécies, observando que o solvente não interaja com mais intensidade com os sítios da MM do que os do MF. Assim, a depender do tipo de MM pode ser que seja mais favorável uma síntese orgânica do que inorgânica, tendo que se observar, então, a MM e a matriz de aplicação, devendo ter compatibilidade com o polímero formado ^{69,71}.

Os MFs são compostos orgânicos acrílicos empregados em síntese radicalar, porém os alcóxissilanos, precursores do processo sol-gel, apresentam grupos funcionais que se complexam, na maioria das vezes, por meio de interações ácido-base⁶⁵. Em consequência, emprega-se um monômero de caráter ácido quando a molécula molde possui caráter básico ou vice-versa ⁷⁸. Dois tipos de MFs podem, também, ser utilizados, simultaneamente, desde que as relações estequiométricas, entre seus grupos funcionais e os da MM, sejam consideradas. ⁷⁹.

As ligações entre os MFs e a formação dos arranjos tridimensionais do polímero são asseguradas pela adição do ALC, que controla a morfologia da matriz polimérica e estabiliza as cavidades/sítios de ligações impressas. Esse reagente, também, é responsável pela estabilidade mecânica da matriz⁸⁰. Geralmente, emprega-

se maior proporção estequiométrica de ALC, em relação ao MF, com objetivo de obter mais poros no material ⁷⁹.

Além do ALC, o solvente utilizado desempenha, também, um papel importante para a formação dos poros e para a área superficial dos MIPs. Os solventes, que pouco solubilizam os componentes de síntese, podem precipitar esses reagentes no início da polimerização e tendem a formar poros maiores e disformes, podendo resultar em materiais com menor área superficial. Em contrapartida, os solventes que solubilizam melhor esses reagentes proporcionam aos MIPs, com menores tamanhos de poros e maior área de superfície, materiais altamente porosos ^{65,77,80}.

Diversos métodos de polimerização podem ser aplicados, para conduzir a síntese dos MIPs e dependem diretamente dos reagentes empregados e da compatibilidade química da matriz de amostra com relação ao material a ser produzido. Para aplicações ambientais aquosas, faz-se necessário que o MIP possua polaridade adequada para adsorver a água e com isso extrair a MM ^{73,77,81}.

2.3.1 Métodos de síntese dos MIPs

Diferentes mecanismos de polimerização têm sido propostos para a obtenção de MIPs, sendo que os mais aplicados são: o radicalar e o de condensação. Os processos radicalares podem ser explorados pelos métodos de polimerização em *bulk*, pela suspensão e pela precipitação; já o processo de condensação envolve, principalmente, a síntese pelo processo sol-gel. Cada um desses procedimentos possui diferentes parâmetros físico-químicos de síntese, que produzem polímeros com propriedades distintas de aplicação. Considerando os procedimentos de síntese utilizados no desenvolvimento desse trabalho, será apresentada, a seguir, uma breve revisão dos processos por condensação e radicalares.

2.3.1.1 Mecanismo sol-gel para obtenção de MIPs inorgânicos

O processo sol-gel surgiu, por volta da década de 80, como uma técnica versátil e simples de obtenção de MIPs, através da combinação de compostos inorgânicos e orgânicos (MF e ALC), com destaque para produção da sílica organicamente modificada (ORMOSILS, do inglês *organically modified silicates*) ^{82,83}. A síntese sol-gel consiste na formação de uma rede tridimensional inorgânica que é formada através da transição de uma suspensão coloidal de partículas sólidas, em meio líquido, conhecida como *sol*, para uma estrutura sólida rígida, porosa e interconectada ^{82,84} conhecida como gel. Os dois precursores mais utilizados, para esse processo, são tetrametoxissilano (TMOS) e tetraetoxissilano (TEOS).

O mecanismo sol-gel, para obtenção dos MIPs, ocorre em duas etapas principais, conforme observa-se pela Figura 6: i) hidrólise dos grupos alcóxidos na presença da MM e ii) condensação⁸⁵. Na hidrólise (Figura 6 – etapa 1) o precursor alcóxido de silício reage diretamente com a água sofrendo a hidrólise e formando grupos reativos do tipo silanóis (Si-O-H) que, conseqüentemente, ocorre a liberação de um álcool. Antes de completar a hidrólise, inicia-se a condensação, formando o grupo siloxano (Si-O-Si), em duas etapas. A primeira condensação (Figura 6 - etapa 2) envolve a reação de oxalação, em que dois grupos silanóis reagem, entre si e liberam a água. A segunda condensação é por alcoxalação (Figura 6 – etapa 3), ocorrendo a reação entre um alcóxido e um hidróxido, para formar o grupo siloxano, que conduz à forma final da sílica amorfa e libera o subproduto álcool ⁸⁵. Até a obtenção final da sílica, o precursor alcóxido passa pela seqüência de formação: oligômero, sol, gel e por último xerogel ⁸⁵.

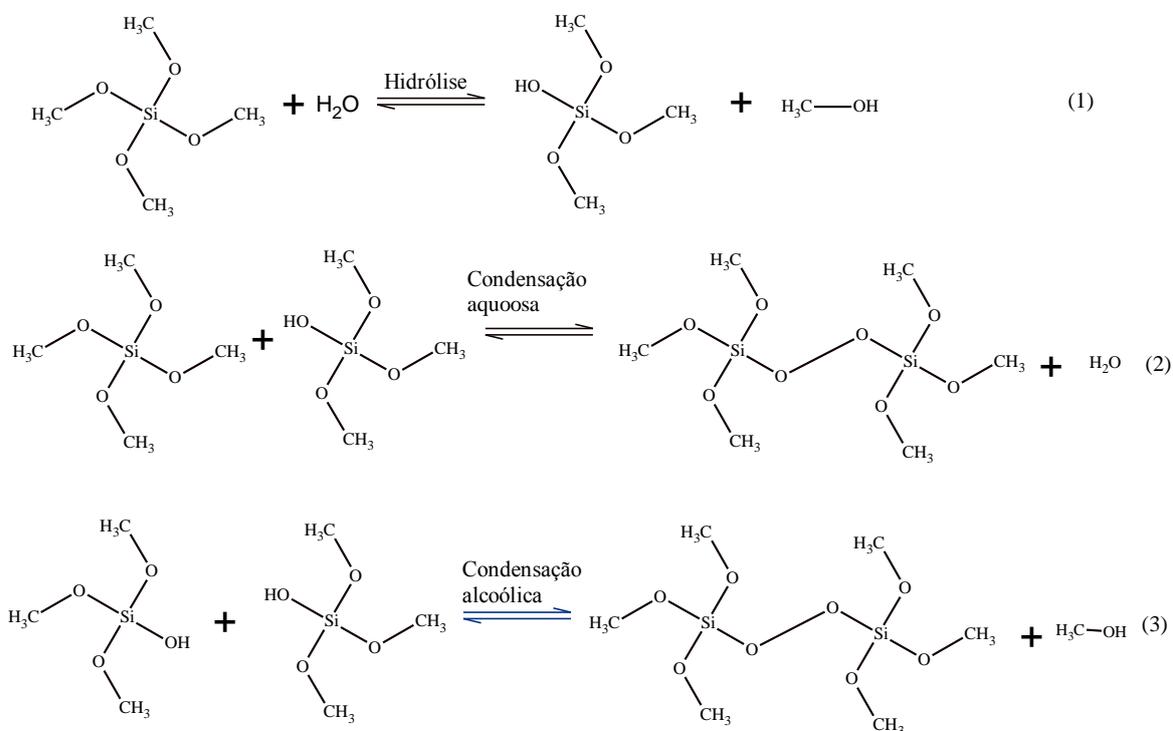


Figura 6. Mecanismo de síntese sol-gel para a formação dos MIPs. (1) reação de hidrólise do alcóxido de silício (2) reação de condensação aquosa (3) e reação de condensação alcoólica.

Durante as reações de hidrólise e condensação, as MMs se organizam, formando cavidades específicas, por meio da interação de sítios de ligação da MM, normalmente, de hidrogênio, com sítios aceptores e doadores de ligação de hidrogênio da sílica. Após a condensação, o material é deixado em repouso, para ser submetido ao envelhecimento e, logo em seguida, os precursores, que não reagiram, são removidos por um processo de secagem ^{68,86}.

Para que essas reações ocorram de forma mais rápida, faz-se necessário o uso de catalisadores ácidos ou básicos que, também, influenciam na porosidade final do gel/MIP^{83,84}. Na catálise básica, a condensação ocorre preferencialmente no centro dos oligômeros e assim os géis formados possuem uma grande porosidade. Esse fato comprova que a velocidade da hidrólise é superior à da condensação, apresentando maior número de cadeias ramificadas no polímero final. Assim, os materiais obtidos pela rota básica, normalmente, são caracterizados como mesoporosos (20 a 500Å)^{30,83,84}. Em condições ácidas, a condensação ocorre nas extremidades dos oligômeros e os géis formados apresentam cadeias lineares com baixos volumes de poros. A velocidade de reação é mais lenta e, em consequência, os volumes de poros apresentam-se menores,^{83,85} resultando materiais de estrutura microporosa (< 20 Å)⁸⁴.

Quanto à formação do MIP, os materiais produzidos, pelo processo sol-gel, podem, ainda, ser adaptados, inserindo grupos funcionais orgânicos para agregar características orgânicas ao MIP^{85,88}. Assim, os MIPs são sintetizados pela combinação de MF orgânicos e inorgânicos e por um ALC, comumente organossilicato, na presença de um catalisador e de um solvente porogênico⁸⁴. Conforme o tipo de MF utilizado, o polímero final pode ser caracterizado como híbrido do grupo I, que possui o MF orgânico ligado à estrutura inorgânica por forças intermoleculares de Van der Waals ou ligações de hidrogênio^{65,84}. O híbrido do grupo II, o MF, é um organossilano e encontra-se unido por ligações covalentes na estrutura inorgânica⁸⁴. Nesse sentido, as propriedades físico-químicas do material polimérico híbrido dependem tanto do pH da solução de síntese quanto da temperatura da reação, da natureza do solvente, do processo de envelhecimento e das condições de secagem⁸².

Para um melhor controle na formação da cadeia polimérica pode-se combinar o processo sol-gel, com a impressão em superfície⁸⁶, que consiste na polimerização do material sobre uma superfície rígida como sílica, pérolas de vidro, nanotubos de carbono, dentre outros. Essa combinação apresenta algumas vantagens, como: a facilidade de remoção da MM, melhor acessibilidade aos sítios de ligação, aumento da velocidade da adsorção e da dessorção, além de um melhor controle do tamanho e da distribuição dos sítios funcionais na nanopartícula^{89,90}.

De um modo geral, a síntese sol-gel apresenta uma grande vantagem para obter o material por uma rota de síntese com condições reacionais mais amenas, como: baixas temperaturas, solvente ambientalmente amigável como a água e pouco uso de reagentes orgânicos. Entretanto, a capacidade adsortiva desses materiais apresenta-se limitada, bem como seu rendimento reacional. Portanto, os MIPs orgânicos, via

radicais livres, são mais empregados nos estudos com MIPs, devido às inúmeras vantagens que serão melhores abordadas no próximo tópico.

2.3.1.2 Mecanismo Radicalares para Obtenção de MIPs orgânicos

A polimerização via radicais livres, é utilizada para sintetizar materiais poliméricos através da quebra de uma ligação dupla da unidade monomérica que se converte num radical de propagação ativa. Uma das principais vantagens desse processo é a versatilidade de grupos funcionais provenientes dos vários monômeros disponíveis para essa função ^{65,79,91}.

O mecanismo de impressão ocorre de maneira similar à síntese sol-gel, com exceção da formação da cadeia, que ao invés de ser formada, via condensação, ocorre por radicais livres. Esse mecanismo é constituído por três estágios distintos: iniciação, propagação e terminação. Na etapa de iniciação, ocorre a formação de radicais livres, por meio de uma clivagem homolítica do iniciador radicalar (IR), que pode acontecer por decomposição térmica ou fotólise. Esses radicais reagem com o MF e o ALC, ocasionando a instabilidade das ligações duplas, da ligação carbono-carbono do MF e do ALC, transferindo o centro ativo e iniciando a polimerização que permanece ativa durante toda a síntese. A segunda etapa refere-se à propagação, nela ocorre uma consequente transferência do centro ativo de monômero a monômero e, por fim, a terminação ocorre com a interrupção do crescimento da cadeia, através do desaparecimento do centro ativo, quando toda a cadeia polimérica está formada ^{65,91}
^{77,80,92}.

Diferentes métodos de síntese empregam a polimerização radicalar, sendo as mais exploradas, a polimerização em *bulk*, por precipitação e por suspensão. O método de polimerização em *bulk* tem sido o mais utilizado devido à sua simplicidade. A síntese é realizada através da mistura dos reagentes, que 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 resultante da alta porosidade das partículas aglomeradas. Após a síntese, necessita-se de uma etapa de moagem e peneiramento, que gera partículas irregulares. Embora esse método seja o mais popular, apresenta algumas desvantagens, como: o processo de síntese lento e a destruição parcial de alguns sítios seletivos, durante a moagem, que podem diminuir a capacidade seletiva de extração do MIP ^{61,65,74}.

O método de polimerização, por precipitação, é similar ao de *bulk* em que se utiliza volumes maiores de solvente. As cadeias poliméricas crescem e se precipitam, durante a reação, até atingirem determinados comprimentos. Em teoria, a rigidez, proporcionada pelo agente de ligação cruzada, é suficiente para impedir as partículas

de se colapsar. Uma das vantagens desse método é a formação de partículas com tamanhos uniformes, um rendimento maior do que o método utilizado por bulk, sendo o de precipitação em torno de 85 % e o de bulk 50 %⁶⁵. Já, a polimerização em suspensão ocorre, também, de maneira similar à polimerização por precipitação, todavia a adição de um agente protetor (estabilizante).

A polimerização em suspensão ocorre dentro das gotas de monômero, que funcionam como minirreatores, permitindo a produção de partículas esféricas numa ampla faixa de tamanho de alguns micrômetros e até milímetros. A síntese se caracteriza pela reação entre monômeros insolúveis, na fase aquosa, (fase contínua) com um IR solúvel no solvente de síntese (fase descontínua). Os monômeros são dispersos, na fase aquosa, através da agitação vigorosa e combinados com agentes estabilizantes, como o álcool polivinílico – PVA, que evita a coagulação das gotas dos monômeros e, por consequência, impedem a coalescência das gotas poliméricas advindas da fase orgânica. As gotículas são convertidas numa solução viscosa que dá origem às partículas poliméricas. Nesse sentido, cada gota formada corresponde a uma micropolimerização em massa⁷⁴. A agitação exerce um controle direto no tamanho e na distribuição das partículas, resultando em maior homogeneidade do material final³³. Isso é de grande valia para a aplicação do MIP, em métodos de extração em geral, visto que as partículas terão capacidade adsorptivas similares, entre elas, logo os sítios de ligação serão mais íntegros, devido à ausência da etapa de moagem⁶⁵.

2.3.2 MIP híbrido para determinação de cafeína

Existem alguns exemplos de MIPs na literatura, aplicados para a extração de CAF, em diferentes matrizes, em nível traço, e sintetizados por diferentes rotas e mecanismos de síntese. Com relação aos MIPs, com matriz predominante de sílica, há alguns trabalhos na literatura, abordando aplicações para extração de CAF^{13,70,81,93,94}. Contudo, em sua maioria, os autores não se dedicaram a otimização do processo de síntese, abordando estudos para encontrar parâmetros mais efetivos de seletividade do material. Um exemplo dessa aplicação é o estudo desenvolvido por Gill e colaboradores (2005)⁹⁵ que sintetizaram um MIP pelo processo sol-gel, na superfície de compósitos de celulose, para a CAF. O polímero apresentou seletividade frente à espécie análoga e frente à teobromina (TEB), sendo aproximadamente 1,4 vezes mais seletivo à CAF do que a TEB. Todavia, a capacidade adsorptiva resultante do MIP foi, relativamente, baixa ($Q_e \cong 0,08 \text{ mg g}^{-1}$), podendo requerer uso de massas maiores de fase sólida e por consequência maior geração de resíduos.

Um dos primeiros MIPs, aplicados para extração de CAF, empregou a rota híbrida de síntese sol-gel e foi produzido por Lin e colaboradores ⁷⁰. Nessa síntese inserem-se esqueletos de sílica, ao polímero orgânico, que proporciona maior adequabilidade em adsorver a matriz polar da água. Foi possível obter uma capacidade adsortiva de 0,074 mg de CAF, por grama do polímero, sendo 1,4 vezes mais seletivo à CAF que a uma molécula de estrutura análoga, a teofilina (TEF), apresentando-se como uma boa fase sólida para extrair a CAF de matrizes aquosas.

Numa aplicação similar, Silva e Augusto¹³, sintetizaram um MIP pelo processo sol-gel híbrido, para extrair a CAF de águas superficiais e urina. Os autores apresentaram dados de seletividade do material, demonstrando que não há diferença entre os análogos estruturais TEB e a teofilina (TEF). Entretanto, avaliações essenciais quanto às propriedades adsortivas dos materiais não foram conduzidas. A ausência desse estudo não permite avaliar, com clareza, a adequabilidade do material para o uso em processos de extração, visto que dados essenciais como a capacidade de adsorção, o tempo de equilíbrio adsortivo, a cinética de adsorção da CAF e a seletividade frente aos seus análogos estruturais (TEF e TEB).

Liu e colaboradores Sun (2013)⁹⁶, também, sintetizaram um MIP híbrido pelo processo radicalar para a CAF. Sob condições otimizadas, o fator de impressão do polímero para CAF atingiu 3,02. O método foi aplicado, para a determinação de CAF em leite apresentando seletividade. No entanto, o autor não deixa claro os dados acerca da capacidade adsortiva do material, que é um parâmetro essencial para inferir a adequabilidade do material sintetizado à matriz de aplicação, principalmente, quando se deseja aplicar o material em procedimentos de extração, como a SPE. Dessa forma, seja qual for a rota de aplicação, diversas técnicas de caracterização do material são essenciais para se constatar a efetividade da síntese do material e, também, das propriedades adsortivas do MIP sintetizado.

2.3.3 Caracterização dos MIPs

Diversas técnicas são aplicadas para a caracterização física e morfológica dos MIPs, sendo as principais: a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e ensaios porosimétricos, que fornecem informações da área superficial e tamanho de poros, a análise termogravimétrica (TG) e a espectroscopia no infravermelho (IR) ⁹⁷. Tais técnicas são aplicadas para verificar a estabilidade térmica do material e, ainda, para classificar e identificar os grupos funcionais presentes nos materiais respectivamente

A caracterização dos mecanismos adsorptivos dominantes e a avaliação da intensidade, da capacidade e da seletividade de adsorção do MIP resultantes são parâmetros essenciais, para aplicar o material em procedimentos de extração. Essas propriedades dependem dos poros presentes no material e, também, da disponibilidade das cavidades e sítios de ligação para a MM. Portanto, a cinética e o equilíbrio de adsorção à MM e ao MIP devem ser descritos, com clareza, e serão abordados a seguir.

2.3.3.1 Estudos de Adsorção

A adsorção é a migração de espécies químicas, presentes em fase líquida ou gasosas, na superfície de um sólido, por meio de um processo físico-químico de natureza espontânea ⁹⁸. Nos processos adsorptivos com os MIPs, as forças intermoleculares, presentes na superfície do material, ocasionam atração ou repulsão nas moléculas que se encontram na interface da solução líquida. Dessa forma, as moléculas que possuem afinidade com o MIP se ligam a sua superfície por meio de forças de adsorção ^{98,99}. Nesses mecanismos, o MIP é denominado adsorvente, enquanto o analito adsorvido é chamado de adsorvato.

A ligação entre o adsorvente-adsorvato ocorre em razão do tipo de interação e essa pode ter caráter reversível ou irreversível por meio de processos físicos ou químicos de ligação ¹⁰⁰. A adsorção física ou fisissorção ocorre por meio de interações de Van der Waals ou ligações de hidrogênio, podendo ser um processo exotérmico ou endotérmico ^{98,99}. Devido à magnitude das forças que predominam na fisissorção, as interações fracas caracterizam-se como um processo reversível. Na adsorção química, também, denominada quimissorção, predomina a formação de ligações covalentes, sendo em geral irreversíveis ^{98,99}.

As interações que os MIPs podem realizar, em grande parte, são descritas por interações não covalentes e mecanismos de fisissorção. Assim, a capacidade de adsorção (Q) do material é predita por meio dos sítios hábeis do material ao se ligar com a MM. O valor da capacidade de adsorção permite conhecer se o adsorvente é apto para o processo de adsorção em MIPs, já a quantificação da capacidade adsorptiva é dada pela relação abaixo, conforme equação 8 ¹⁰¹.

$$Q_e = \frac{(C_i - C_f) \times V}{m} \quad (8)$$

Quanto à fórmula anterior, o Q_e (mg g⁻¹) é a capacidade de adsorção no equilíbrio, enquanto o C_i (mg L⁻¹) refere-se à concentração inicial da solução de adsorvato; o C_f (mg L⁻¹) indica a concentração de adsorvato livre no equilíbrio; o V (L)

relaciona-se ao volume da solução do analito e o m (g) corresponde à massa do adsorvente aplicado (MIP ou NIP).

A partir da capacidade de adsorção, é possível calcular o fator de impressão (FI) do polímero em estudo, através da fórmula expressa na Equação 9, a qual é definida pela razão da resposta do MIP versus NIP¹⁰¹.

$$FI = \frac{Q_{MIP}}{Q_{NIP}} \quad (9)$$

Assim, pode-se prever a cinética de adsorção, por meio da investigação, do mecanismo que controla a velocidade do processo de adsorção dos polímeros. Alguns modelos cinéticos são responsáveis por descrever a ordem da reação de adsorção, baseados na concentração da solução^{66,102}, dentre eles, destacam-se: o modelo pseudo-primeira ordem e o pseudo-segunda ordem, conforme o que será exposto pelas equações 10 e 11 respectivamente ^{66,102,103}.

Esses modelos preveem o comportamento cinético sobre toda a faixa de estudo sobre um processo de adsorção química ou física que possui taxa controlada.

$$\ln(Q_e - Q_t) = \ln Q_e - K_1 t \quad (10)$$

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{K_2 Q_e^2} + \frac{1}{Q_e} t \quad (11)$$

Quanto às equações acima, as variáveis Q_e e Q_t (mg g^{-1}) representam as quantidades do adsorvato adsorvidas no equilíbrio e no tempo t (min), respectivamente; e o K_1 (L min^{-1}) é a constante de velocidade de adsorção pseudo-primeira ordem. Já a representação gráfica de $\ln(Q_e - Q_t)$, em função de t , tende a ser uma reta com interseção que corresponde à $\ln Q_e$ e inclinação a $-K_1$.

O parâmetro K_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$) (Equação 11) refere-se à constante de velocidade de pseudo-segunda ordem. A correlação entre t/Q_t e t origina uma reta com inclinação $1/Q_e$ e interseção $1/(K_2 Q_e^2)$. Após a avaliação cinética, é possível prever aspectos acerca do mecanismo adsorvativo, através do estudo das isotermas de adsorção, obtém-se informações úteis da força de adsorção de cada sítio do material em adsorver o analito e, também, como se comporta na superfície do polímero ¹⁰⁴. Há várias equações ou modelos de avaliação para as análises das isotermas de adsorção. Neste trabalho de pesquisa, aplicou-se os modelos lineares e não lineares de Langmuir-Freundlich e, também, os modelos simples e duplos não lineares dos mesmos autores ^{66,105,106}.

A Equação 12 representa o modelo isotérmico de adsorção de Langmuir⁵⁷.

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{K_L} + \frac{Q_e}{b} \quad (12)$$

Com relação à equação acima, a variável K ($L g^{-1}$) indica a constante de Langmuir relacionada com a afinidade adsorvato-adsorvente, já as variáveis Q_e ($mg g^{-1}$) e a C_e ($mg L^{-1}$) representam a concentração, na fase líquida e na fase sólida respectivamente. Enquanto que o parâmetro b ($mg g^{-1}$) indica a quantidade máxima adsorvida na monocamada. Por outro lado, o parâmetro de equilíbrio R_L permite prever a forma da isoterma de adsorção, indicando se a adsorção é favorável ou desfavorável e pode ser calculado pela Equação 13.

$$R_L = \frac{1}{1+K_1b} \quad (13)$$

No entanto, a Equação 14 indica o modelo isotérmico de Freundlich ⁸⁰.

$$Q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (14)$$

Constata-se que a variável Q_e é definida como a capacidade de adsorção no equilíbrio em $mg g^{-1}$, enquanto que a variável K_F ($mg g^{-1}L mg^{-1}$) é a constante de Freundlich, relacionada à afinidade dos analitos com a superfície, já C_e é a concentração no tempo de equilíbrio ($mg L^{-1}$) e o n é a constante característica relacionada à intensidade de adsorção.

O modelo híbrido Langmuir-Freundlich é uma expressão versátil que pode simular comportamentos dos modelos de Langmuir e Freundlich, os quais abordam que a superfície do material adsorvente é formada por diferentes sítios de ligações. O modelo híbrido para um sítio (Equação 15) prediz que os sítios são energeticamente homogêneos. Já no modelo híbrido de dois sítios (Equação 16) indica que o material adsorvente pode apresentar sítios de ligação heterogêneos na superfície que, sob baixas concentrações, evita a limitação da concentração do adsorvato pelo modelo de Freundlich, considerando a adsorção em multicamadas. No entanto, em maiores concentrações prediz uma capacidade de adsorção em monocamada característica da isoterma de Langmuir^{66,109}.

$$Q_e = \frac{b_1(K_1C_e)^{n_1}}{1+(K_1C_e)^{n_1}} \quad (15)$$

$$Q_e = \frac{b_1(K_1C_e)^{n_1}}{1+(K_1C_e)^{n_1}} + \frac{b_2(K_2C_e)^{n_2}}{1+(K_2C_e)^{n_2}} \quad (16)$$

Nas equações acima, a variável Q_e representa a quantidade de adsorvato adsorvido no equilíbrio; a b indica a capacidade máxima de adsorção, a $mg g^{-1}$, $K_{1,2}$ refere-se à constante para um ou dois sítios de ligação e o n representa o grau de afinidade dado em $L g^{-1}$. Por fim, a variável C_e refere-se à concentração na fase líquida no equilíbrio ($mg L^{-1}$)^{66,107}.

Além disso, é possível obter parâmetros termodinâmicos do equilíbrio adsorptivo, por meio de estudos com a temperatura, permitindo inferir sobre a magnitude das forças de ligação e reversibilidade das mesmas^{66,107}. Três parâmetros indicam se é possível ou não ocorrer o processo de adsorção: a entalpia padrão (ΔH° , kJ mol⁻¹), a entropia padrão (ΔS° , J mol⁻¹ K⁻¹) e a energia livre de Gibbs (ΔG° , kJ mol⁻¹)¹⁰⁷. A ΔH° indica se o processo é de natureza endotérmica ou exotérmica à pressão constante, além de permitir diferenciar o processo de fisissorção e quimissorção. Na fisissorção, o ΔH° , em geral, encontra-se abaixo de 10 kcal/mol, ou seja, na ordem de uma condensação/vaporização e na quimissorção, esse valor é acima de 20 kcal/mol¹¹⁰. A ΔG° fornece informação da espontaneidade do processo de adsorção. Valores negativos implicam processos espontâneos, enquanto os positivos indicam os não espontâneos, ou seja, que é necessário fornecer energia ao sistema. A ΔS° indica um aumento dos graus de liberdade na interface sólido-líquido.

Estudos envolvendo os processos de adsorção têm ganhado maior espaço, nos trabalhos, com diferentes rotas de síntese dos MIPs^{99,102,109,111,112} inovadores, mas, ainda, não houve total clareza sobre como se dá o processo de adsorção para aquele determinado analito. Assim, esses valores contribuem para que haja condições adequadas para trabalhar e aproveitar da melhor maneira adsorptiva o material. Os parâmetros termodinâmicos foram calculados pelas equações 17 e 18

$$\ln K_d = \left(\frac{\Delta H^\circ}{R}\right) \frac{1}{T} + \left(\frac{\Delta S^\circ}{R}\right) \quad (17)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (18)$$

Registra-se que o R é a constante universal dos gases, cujo valor é 8,314 J K⁻¹ mol⁻¹ e T a temperatura (K), K_d é a constante de distribuição (Equação 19). Dessa forma, os valores de ΔH° e ΔS° são calculados plotando-se $\ln K_d$ versus $1/t$, determinando o intercepto e a inclinação da reta obtida por meio da regressão linear simples. O valor da variação de energia livre do Gibbs padrão pode ser calculado a partir da Equação 18^{66,107,113}.

$$K_d = \left(\frac{C_i - C_f}{C_f}\right) \cdot \frac{V}{m} \quad (19)$$

As variáveis C_i , C_f , V e m representam as concentrações iniciais, finais, o volume da solução em mililitros e a massa do polímero em gramas respectivamente. Diante do exposto, este presente trabalho se propôs a estudar diferentes rotas de síntese de MIPs para a CAF, com foco no processo sol-gel e radicalar, de modo a encontrar um MIP compatível com o ambiente aquoso, para realizar a extração da CAF

em amostras aquosas ambientais. O material otimizado será empregado no preparo da amostra, a fim de extrair a CAF, em águas superficiais, e em amostradores passivos do tipo DGT, para a separação da CAF *in situ*, desenvolvendo uma metodologia ampla de análise da CAF.

**Capitulo 3 – Planejamento fatorial da síntese de
polímero molecularmente impresso híbrido pelo
processo sol-gel**

3 Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

3.1 INTRODUÇÃO

O processo sol-gel vem despertando interesse da comunidade científica para a síntese dos MIPs, devido à simplicidade do processo de síntese e das condições reacionais empregadas. Além disso, para aplicações, em meio aquoso, observa-se, em dados da literatura, que os MIPs, à base de sílica, proporcionam boa compatibilidade da matriz polimérica à da amostra, visto a hidrofiliabilidade do material, bem como sua robustez frente ao inchaço que a água pode ocasionar em materiais poliméricos orgânicos^{86,114}. Nesse sentido, a combinação do processo sol-gel, preparados pelos monômeros que contenham grupos funcionais orgânicos e inorgânicos, resulta em MIPs com natureza híbrida, HMIP (do inglês, *Hybrid Molecularly Imprinted Polymer*). Os polímeros obtidos por esse processo possuem propriedades físico-químicas e mecânicas, superiores aos orgânicos, em termos de porosidade, estabilidade térmica e resistência à ação química^{65,88}. Assim, os MIPs híbridos inorgânicos podem ser uma excelente alternativa para a separação da CAF, em amostras aquosas, visto que pode reduzir os custos financeiros da análise química e/ou do método de extração aplicado⁸⁶.

Como já abordado na seção anterior, a CAF presente, em águas superficiais, apresenta concentrações na ordem de ng L^{-1} , tornando o método analítico dependente de uma etapa de pré-concentração seletiva. Dessa maneira, o preparo da amostra é uma etapa fundamental para obter limites de detecção que possibilitem uma determinação eficaz. Entretanto, os trabalhos que desenvolveram a síntese sol-gel não abordaram uma proporção estequiométrica e sistemática para a síntese desses materiais e demonstraram fatores de impressão e capacidades adsorptivas que oscilam entre 3 até 15 vezes em comparação ao NIP. Além disso, técnicas espectroscópicas de avaliação da formação do complexo da MM com os MFs, não se adequam para a otimização da complexação pré-síntese, visto a absorptividade reduzida dos compostos à base de sílica.

Portanto, diante dos altos valores que oscilam a seletividade e os fatores de impressão relatados por esses materiais, nota-se que a eficiência é intensamente dependente dos parâmetros de síntese aplicados, tornando possível obter um índice de

seletividade e impressão bem maiores que a dos polímeros orgânicos (> 10 vezes)¹³. Dessa maneira, a aplicação de ferramentas de otimização dos experimentos, como o planejamento fatorial, pode propiciar uma visão holística do ponto ótimo de adsorção, de modo a obter um MIP seletivo para a CAF. Ressalta-se, ainda, que devido à simplicidade da síntese sol-gel, é possível aplicar essa ferramenta num tempo hábil de modo a obter um material otimizado.

Tendo em vista esses fatores, o presente capítulo tem como objetivo otimizar as proporções dos reagentes para a síntese de HMIPs, a partir do processo sol-gel, utilizando planejamento fatorial e algumas variações: triplicata no ponto central e EVOP (*Evolutionary Operation*), a fim de evidenciar as principais diferenças dos materiais que fazem uma fase sólida seletiva para extrair a CAF de matrizes aquosas. Alternativamente, um processo de síntese, em superfície de sílica, também, foi testado, utilizando o ponto ótimo do planejamento fatorial. Pelo que se sabe, essa estratégia, ainda, não foi abordada nos trabalhos que aplicam HMIPs para a extração da CAF.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Reagentes

Aminopropiltrimetoxissilano (APTMS), Tetraetoxissilano (TEOS), sílica gel de formato irregular (Cromatografia de camada fina \cong 50 μ m), CAF, TEF e teobromina (TEB) foram adquiridos da Sigma-Aldrich grau P.A. Já, o metanol e o etanol foram adquiridos da Tedia, enquanto o ácido clorídrico (HCl) e o hidróxido de amônia (NH₄OH) foram adquiridos da Biograde. A água utilizada, neste estudo, foi deionizada (\geq 18 M Ω cm⁻¹) e produzida, utilizando um sistema de purificação Milli-Q.

3.2.2 Equipamentos

- Agitador magnético com aquecimento Go-Stirrer MS-H-S;
- Análise termogravimétrica – Shimadzu, Modelo: DTG-60H;
- Balança analítica, Shimadzu, precisão de 0,0001 g;
- Banho ultrassom Unique, modelo 1400;
- Banho maria com movimento recíproco horizontal com controle de temperatura de 4 – 100 °C– Dubnoff, modelo: 304, TPA;
- Barras magnéticas: 3 mm x 7 mm;

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

- Bomba peristáltica, Ismatec, modelo IPC High precision multichannel dispenser
- Bureta de 50 mL;
- Centrífuga de bancada KC5, Kinddly, velocidade máxima 4.000 rpm;
- Concentrador, TE-019 Tecnal;
- Coluna cromatográfica Bownlee Analytical C18 diâmetro médio de 5 μm , 250 x 4,6 mm, PerkinElmer;
- 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;
- Cubeta de quartzo com tampa, volume: 3,5 mL, Ioncell;
- Dobinofe - Banha Maria com movimento recíproco horizontal TPA;
- Espectrofotômetro UV-Vis, Agilent, modelo 8454;
- Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), Varian, Modelo 640-IR;
- Frascos borossilicato, 100 e 250 mL;
- Fritz de polipropileno, 0.22 μm ;
- Holders diversos para filtração, 13 e 25 mm, Sigma Aldrich;
- Homogeneizador Hematológico modelo SP 260H SP Labor;
- HPLC - Shimadzu, composto de uma bomba de alta pressão, modelo LC-20AD;
- Detector Flexar PDA, válvula de injeção (alça de amostragem de 20 μL);
- Software Chromera, verison 3.4.0.5712, PerkinElmer;
- Membrana de nitrato de celulose para filtração, 0,45 μm , Unifil;
- Membrana de PVDF para filtração, 0,22 μm , Sigma Aldrich;
- Micropipetas automáticas;
- Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), Modelo FEI Quanta 200-3D;
- Seringas de polipropileno, 5, 10, 25 mL;
- Sistema de deionização de água Milli-Q – Millipore;
- Suporte universal;
- Surface Area e Pore Size Analyser, Quantachrome, modelo Nova 2200 c;
- Tubos de ensaio com tampa, capacidade 10 mL;
- Tubos de Vitton (roxo-roxo), capacidade nominal, Cole-Parmer Instrument Co;
- Tubos Falcon de 15 mL e 45 mL;
- Vials âmbar, capacidade máxima 2 mL;
- Vidrarias de laboratório.

3.2.3 Planejamento Fatorial para Síntese Sol-Gel Híbrido

Para verificar as variáveis que propiciam a obtenção de um MIP, com alta seletividade e capacidade adsorptiva, foi utilizada a técnica de planejamento experimental, com objetivo de otimizar as melhores condições de síntese com um número reduzido de experimentos.

No presente estudo foi avaliada a influência de três fatores, bem como suas possíveis interações sobre a variável resposta e com relação ao fator de impressão. Os fatores avaliados foram: (1) catalisador ácido (HCl 0,1 mol L⁻¹) e básico (NH₄OH concentrado); (2) concentração de MF (APTMS) (2 mmol e 4 mmol) e (3) concentração de ALC (TEOS) (8 mmol e 40 mmol). As respostas das interações foram avaliadas em função do fator de impressão (Equação 9). A capacidade de adsorção (Q) da CAF, pelo MIP e pelo NIP, foi avaliada pela diferença da concentração de CAF no sobrenadante, antes e depois da adsorção, sendo estimada pela Equação 8, proposta por Zeng e colaboradores¹¹⁵ e os valores utilizados para estimar a resposta foi FI.

O estudo experimental da capacidade adsorptiva dos polímeros foi efetivado através da adsorção de 20 mg de cada um dos polímeros sintetizados, em frascos individuais com tampa, e neles foram adicionados 10 mL de uma solução de CAF com concentração de 2 mg L⁻¹. Em seguida, os frascos foram lacrados e homogeneizados por 3 horas. Ao término, a solução foi centrifugada por 20 min, a 4000 rpm e o sobrenadante filtrado foi analisado no espectrofotômetro UV-Vis, para determinar a CAF não adsorvida pelo MIP. Vale lembrar que testes foram feitos em triplicata. Em paralelo, foi preparada, uma curva de calibração, com faixas de concentração de 0,2 a 2,5 mg L⁻¹, com padrão de CAF no espectrofotômetro UV-Vis¹³.

Neste estudo, o planejamento foi utilizado como uma ferramenta de triagem e o tratamento estatístico dos resultados foi realizado a partir da utilização do *software Statistica* versão 7.0. Assim, as variáveis foram definidas para cada um dos três fatores em estudo (Tabela 1), constatando que os níveis variaram de -1 a +1 (Tabela 2).

Tabela 1. Fatores e níveis estudados durante a triagem no planejamento experimental.

Fatores	Níveis de variação dos fatores	
	-1	1
Catalisador	HCl	NH ₄ OH
Monômero Funcional	2mmol	4mmol
Agente de Ligação Cruzada	8mmol	40mmol

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

Tabela 2. Matriz do planejamento fatorial 2^3 , em sua forma codificada.

Ensaio	Fatores		
	Catalisador	MF	ALC
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1

3.2.4 Síntese do HMIP Sol-Gel

O procedimento geral da síntese constituiu na mistura de 4 mmol de CAF, 10 mL de água destilada e APTMS, de acordo com as proporções citadas na Tabela 2, e codificada, num béquer até à completa solubilização. Em seguida, foi adicionado 200 μ L de catalisador e TEOS, de acordo com a Tabela 2. A mistura foi aquecida, sob agitação, a 40 °C até à gelificação, ocorrendo a formação de um monolito branco opaco.

Os polímeros obtidos foram deixados à temperatura ambiente, por 72 horas, para serem envelhecidos. Posteriormente, foram secos, em estufa, a 120°C, por 2 horas, e, na sequência, foram macerados e peneirados em peneiras granulométricas ($dp = 126$ e $56 \mu\text{m}$). A seguir, foram submetidos a um processo de remoção da molécula molde, por meio de lavagem com metanol, em ultrassom, na proporção 40 mL de solvente por grama de MIP. Em seguida, a solução foi filtrada e o sobrenadante foi analisado por espectrofotometria, na região UV-Vis, a 272 nm, para verificar se, ainda, havia a presença da molécula molde. O término da lavagem só ocorreu quando não apresentou mais detecção de CAF, em sinal mensurável, por UV-vis. Por fim, os polímeros foram secos, em estufa, a 120 °C, identificados como HMIP-SG e estocados para posterior aplicação. Foi realizada a extração da MM, em ultrassom (1h), por, aproximadamente, 10 vezes, com metanol na proporção 1g de polímero para 40 mL de metanol, em cada uma das lavagens, para remoção da CAF. Paralelamente, foi preparado um material, sem a adição da molécula molde, denominado de polímero não impresso molecularmente (NIP). Registra-se, ainda, que foram realizados todos os procedimentos descritos anteriormente.

3.2.5 Síntese do HMIP Sol-Gel em Superfície

Primeiramente, 10 g de gel de sílica foram ativados por refluxo, com 120 mL de ácido clorídrico 6 mol L⁻¹, por 8 horas. Posteriormente, a sílica ativada foi filtrada e lavada

com água deionizada até pH neutro e seca, em estufa, a 120°C, por 12 horas. Para o preparo do MIP, utilizou-se o procedimento de síntese otimizado, nas condições anteriores (item 2.3.2), e após a adição do TEOS, acresceu-se 200 mg de sílica ativada. O polímero obtido foi deixado em agitação, em temperatura ambiente, por 24 horas. A reação permaneceu em temperatura ambiente, por 42 horas, e para finalizar, o produto foi lavado, exaustivamente, com metanol para remover a MM, conforme o procedimento descrito no item anterior. Esse polímero foi denominado de HMIP-SI. Em paralelo, foi preparado HNIP-SI.

3.2.6 Caracterização Química e Estrutural dos HMIPs/HNIPs

Com a finalidade de avaliar os grupamentos existentes nos polímeros, utilizou-se a espectroscopia de absorção no infravermelho. Para as medidas dos espectros IV, os polímeros foram macerados em KBr a temperatura ambiente. Os ensaios foram conduzidos, num espectrômetro de infravermelho, com a transformação de Fourier (FT-IR), Modelo 640-IR (Varian), com resolução de 4 cm⁻¹ e medidas entre 400 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹ e 64 varreduras. O equipamento é pertencente ao Laboratório da central analítica do IQ-UnB.

A caracterização morfológica da superfície dos HMIP/HNIP foi realizada num Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo FEI Quanta 200-3D), pertencente ao Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal (INC/DPF) de Brasília - DF. Cada amostra foi previamente metalizada com ouro, a fim de torná-la condutora, utilizando atmosfera inerte de Argônio, enquanto que as superfícies foram registradas com ampliações de 500 a 10000 vezes.

A porosidade e a área superficial específica dos polímeros foram avaliadas através de ensaios de porosimetria de sorção de nitrogênio que consistiu na exposição do polímero a 100°C, por 3 h a vácuo. Depois desse período, o material foi submetido a diferentes pressões de nitrogênio e, em seguida, foram medidas a sorção física e dessorção de gás nitrogênio, nos poros da amostra sólida, em função da sua pressão. Também, foram obtidas as isotermas de sorção, pelos métodos BET (Brunauer, Emmett and Teller) e o BJH (Barret, Joyner and Halen), para verificar tanto a área superficial quanto a do volume e do tamanho dos poros. O ensaio foi conduzido a um equipamento Surface Area e Pore Size Analyser, a 100 °C, pertencente ao Laboratório de Materiais e Combustíveis (LMC) do IQ-UnB.

As análises termogravimétricas dos MIPs foram realizadas, a fim de avaliar as estabilidades térmicas. O experimento foi conduzido num 2960 Simultaneous DSC-TGA da TA e, através de uma microbalança, foi possível determinar a porcentagem de perda da massa da amostra com relação ao aumento da temperatura. Registra-se, ainda, que o experimento foi aquecido numa temperatura entre 25 °C até 1000 °C, a 10 °C/min, em ar sintético. O equipamento é pertencente ao Laboratório da central analítica do IQ-UnB.

3.2.7 Estudos de Adsorção Cinética

Com a finalidade de avaliar o tempo necessário para que a interação entre a CAF e o MIP chegasse ao equilíbrio, foi realizado um estudo cinético através da utilização de 36 tubos de Falcon, de 15 mL, contendo 20 mg de cada MIP, seguidos da adição de 10 mL de solução de CAF 2 mg L⁻¹. Tais tubos foram mantidos, sob agitação constante, a temperatura ambiente, por 4 horas. Menciona-se, também, que três tubos foram retirados, em tempos determinados (10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 e 240 min). Em seguida, os frascos foram centrifugados por 20 min, a 4000 rpm, além de filtrar o sobrenadante.

Leituras de absorvâncias foram realizadas, para verificar a presença da CAF não adsorvida pelo MIP. Em paralelo, uma curva de calibração foi preparada com padrão de CAF, no espectrofotômetro UV-Vis, a 272nm. Logo, pôde-se avaliar o tempo necessário de agitação, para atingir o equilíbrio químico e obter a formação do complexo desejado. As capacidades adsorptivas, em determinado período de tempo Q(t), foram calculadas conforme a equação 8. Após a aquisição dos dados, os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem conforme as equações 10 e 11.

3.2.8 Estudo de equilíbrio de adsorção

Para avaliar a capacidade de reconhecimento molecular dos MIP e NIP foram realizados estudos de adsorção com CAF solubilizada em água. Inicialmente, foram transferidos 20 mg de MIP e NIP, em tubos de Falcon de 15 mL, e adicionados 10 mL de solução de CAF nas concentrações 1 a 20 mg L⁻¹. Os frascos foram fechados e homogeneizados, por 2 horas, a temperatura ambiente. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm, por 20 minutos. Após o procedimento, o sobrenadante foi filtrado, centrifugado a 4000 rpm, por 20 min e analisado conforme os itens anteriores.

Ao descrever o processo de adsorção, aplicou-se os modelos não lineares de Langmuir e Freundlich, além dos modelos simples e duplos não lineares de Langmuir-Freundlich, conforme as equações 12, 13, 14 e 15. Todavia, os ajustes dos modelos de isoterma de adsorção foram realizados no software Origin (versão 8.0)

3.2.9 Estudo Termodinâmico de Adsorção

Para o estudo termodinâmico de adsorção, transferiu-se 40 mg dos polímeros para tubos Falcon de 15 mL e, na sequência, foi adicionado 10 mL de solução de CAF 50 mg L⁻¹. Tal procedimento foi realizado a 283,15; 293,15; 303,15; 313,15 e 323,15 K, para todos os MIPs e NIPs. Os tubos foram mantidos, sob agitação, por um período de 2 h. Após esse período, as suspensões foram centrifugadas a 4000 rpm, por 20 minutos. Ao final desse procedimento, uma alíquota do sobrenadante foi filtrada e separada para análise.

3.2.10 Estudo de Seletividade

Objetivando atestar a impressão dos MIPs, em relação ao analito alvo, foram realizados estudos de adsorção de soluções ternárias, contendo CAF, TEF e TEB em concentrações iguais. Essas espécies foram escolhidas por apresentarem estruturas semelhantes, sendo a CAF, o analito, a TEF e a TEB considerados interferentes.

Os experimentos foram realizados a temperatura ambiente, neles 40 mg de cada polímero foram colocados em tubos Falcon de 15 mL e, em seguida, agitados, durante 2h, com 10 mL de uma solução ternária, contendo 10mg L⁻¹ de cada analito. Após, o sobrenadante foi coletado e filtrado com filtro de membrana de 0,45 µm. A amostra foi quantificada por HPLC-UV. A partir dos resultados obtidos, foram determinados os parâmetros relacionados ao desempenho da seletividade do adsorvente, como: coeficiente de distribuição, coeficiente de seletividade (*k*) e coeficiente de seletividade relativo (*k'*).

O valor de *k_d* descreve como a espécie se encontra distribuída na matriz polimérica e é representada pela equação 19. O *k* é encontrado através da razão entre *k_d* do analito e o *k_d* estimado para os interferentes (Equação 20).

$$K = \frac{k_{d_{analito}}}{k_{d_{interferente}}} \quad (20)$$

O coeficiente de seletividade é definido como a relação entre o coeficiente de distribuição do analito com os dos interferentes. O coeficiente de seletividade, relativo a

(k'), que expressa a relação da constante de distribuição entre o polímero impresso e o polímero controle, foi calculado pela Equação 21.

$$k' = \frac{k_{MIP}}{K_{NIP}} \quad (21)$$

3.2.11 Condições do método cromatográfico

Para a separação e determinação da CAF, foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta pressão (HPLC) e detecção UV em 272 nm. As separações foram realizadas numa coluna de fase reversa C-18 (dimensões: 250 x 4,6 mm, diâmetro de partícula de 5µm, Browniee Analytical Perkin Elmer). O método desenvolvido foi baseado nos estudos realizados por MACHADO et al., 2016, com adaptações, através do emprego, na fase móvel metanol: água (40:60), com vazão de 0,8 mL min⁻¹ e injeção de 100 µL de padrão/amostras. A separação dos compostos foi conduzida por meio de gradiente binário e de acordo com a seguinte programação: de 0 a 1 min 10% de MeOH e 90% de água, aumentando, linearmente, de 1 a 2 min, resultando em 40% de MeOH e 60% de água ao final dos dois minutos. De 2 a 8 min, o gradiente foi mantido, em 40% de metanol e 60% de água, diminuindo para 10% de metanol em 8 min. As condições iniciais foram restabelecidas, em 2 min, resultando em 12 min de análise cromatográfica. As curvas de calibração para CAF, TEF, TEO, foram executados, em triplicatas autênticas, na faixa de concentração de 50 - 1000 µg L⁻¹.

3.2.12 Procedimento de extração HMIP-SG em SPE

3.2.12.1 Confeção dos cartuchos de extração

Os cartuchos foram confeccionados através da utilização de seringas de plástico de 5 mL, nas quais foram adicionadas 300 mg de HMIP-SG, entre dois fritz, e uma membrana de filtração. A adição dos componentes no cartucho foi por meio da membrana de filtração de 0,22, a qual foi, devidamente, cortada e alocada por cima do fritz e, ainda, 300 mg do HMIP-SG foi pesado no próprio cartucho. Outro fritz foi inserido, na parte superior do sólido, de modo a comprimir a massa do HMIP-S (MISPE) como pode ser observado pela Figura 7.

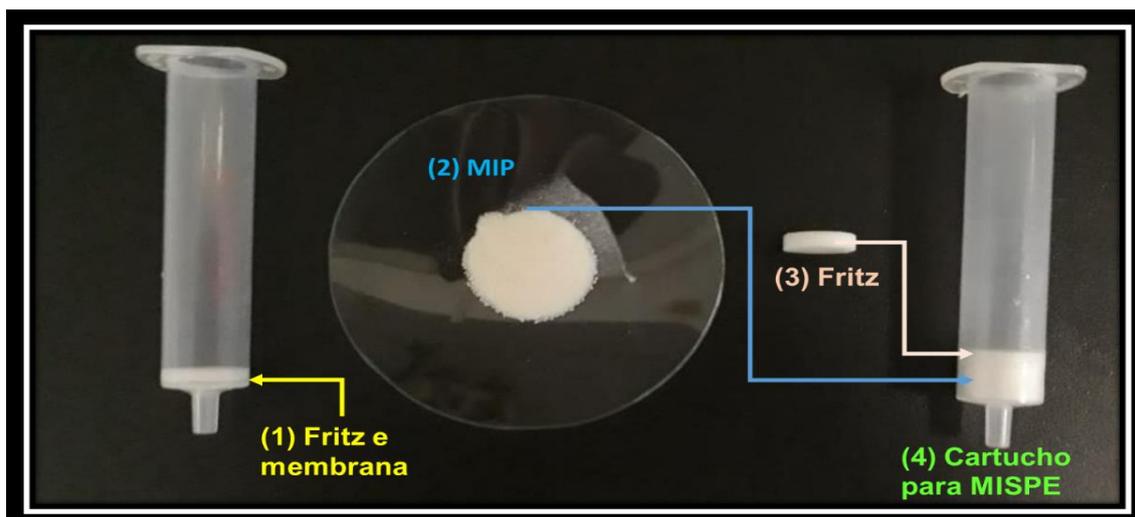


Figura 7. Esquema de montagem do cartucho MISPE. (1) adição do fritz inferior e membrana de PTFE 0,22 μm , devidamente, recortada; (2) adição da massa aferida de HMIP e (3) adição do fritz superior para compactação da massa; (4) Cartucho para MISPE.

3.2.12.2 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 (Figura 8). Os cartuchos foram apoiados num suporte universal e numa vazão de 0,5 mL min^{-1} .



Figura 8. Sistema MISPE. (A) cartucho de extração; (B) tubo de vitton e (C) bomba peristáltica.

3.2.12.3 Avaliação da MISPE para extração da CAF

Com base em trabalhos desenvolvidos na literatura, envolvendo MISPE para CAF^{13,96,116}, algumas condições experimentais foram pré-definidas. Dessa forma, o condicionamento foi realizado com 3 mL de metanol, seguidos de 3 mL de água ultrapura, seguido da adição de 10 mL de CAF 200 µg L⁻¹ percoladas, a uma vazão de 0,5 mL min⁻¹. Na etapa de lavagem, foi percolado 1,5 mL de água destilada e, em seguida, os cartuchos foram secos e a CAF eluída com 2 mL de metanol. Para monitorar as etapas de condicionamento à lavagem e estimar a eficiência da eluição, todas as soluções envolvidas no procedimento de MISPE foram analisadas por HPLC-UV, conforme método estabelecido no item 3.2.11. Após a otimização do MISPE, estudos de seletividade, com soluções ternárias, contendo 200 µg L⁻¹ CAF, TEF e TEB, foram conduzidos e os eluatos foram determinadas por HPLC-UV.

3.2.12.4 Estudo do volume de breakthrough

Objetivando estimar a capacidade máxima adsortiva do cartucho de MISPE, foi conduzido um ensaio de volume de *breakthrough* da massa de HMIP, numa concentração de 1 mg L⁻¹ da CAF. Primeiramente, condicionou-se o cartucho conforme procedimento pré-estabelecido. Com o auxílio de uma bureta de 50 mL, adicionou-se alíquotas de 10 mL de CAF, a uma vazão de 0,5 mL min⁻¹. Cada alíquota percolada foi coletada em tubos de ensaios, separados e analisada por HPLC-UV, enquanto a curva de *breakthrough* foi plotada como uma função do volume percolado x concentração da CAF percolada.

3.2.12.5 Estudo de reutilização

Com a finalidade de investigar a viabilidade econômica do processo de sorção, foi estudada a capacidade de regeneração do HMIP. Os testes de reutilização do HMIP-SG foram realizados sob as mesmas condições descritas 3.2.12.3.

3.2.13 Aplicação em Amostras de Águas Superficiais

Para o estudo de aplicação, foram coletadas amostras no Lago Paranoá, Brasília - DF com o auxílio de um frasco de PTFE, previamente, ambientado com a amostra coletada. Antes das análises, as amostras foram filtradas numa membrana de 0,47 µm em laboratório. Os estudos foram realizados com as condições otimizadas da MISPE. As amostras foram fortificadas com 10, 20 µg L⁻¹ de CAF e 500 mL de cada amostra (0,10 e 20 µg L⁻¹) percolada (n=3).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Planejamento fatorial para a Síntese do MIP sol-gel híbrido

O esquema reacional da síntese abordada será representado pela Figura 9. A estrutura do MIP pode ser formada, considerando que a CAF contém em sua estrutura molecular grupos funcionais que são capazes de interagir fortemente com o APTMS, ocorrendo a formação de um MM-MF estável, devido à formação de ligações de hidrogênio, com os grupos funcionais da CAF e com os grupos amino do APTMS. Em seguida, o complexo pode, então, ser interligado por hidrólise e condensação de TEOS e APTMS, na presença de catalisador, formando a rede polimérica rígida. Após a completa gelificação e secagem dos MIPs, a remoção da CAF produziu cavidades como às da cadeia do polímero, compatíveis com as moléculas de CAF. Essas cavidades agem como sítios de ligação seletivos, para tais espécies, durante o processo de extração e levando ao isolamento seletivo da CAF.

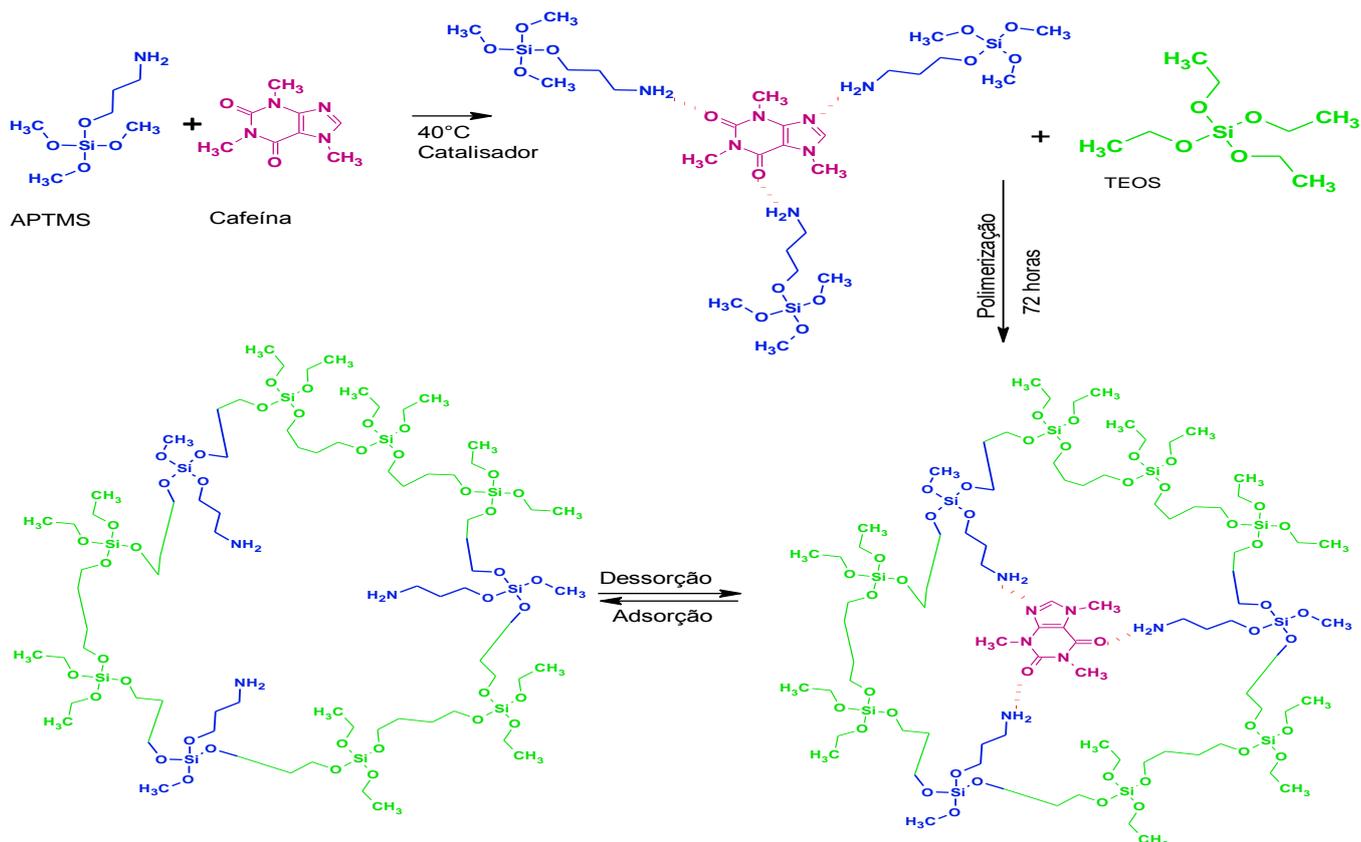


Figura 9. Esquema da síntese do polímero molecularmente impresso pelo processo sol-gel híbrido.

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

Com relação aos resultados obtidos no planejamento experimental, observou-se alta influência do catalisador para a obtenção de maior impressão da CAF nos polímeros (Tabela 3). Esse efeito pode estar relacionado à melhor formação das cadeias poliméricas pelo mecanismo de catálise básica⁸⁴. Nessa rota, o catalisador, por transferência de carga, propicia um ataque nucleofílico no silício, podendo fazer com que o gel cresça de forma mais esférica, no centro dos oligômeros e por meio da interconexão das partículas primárias. Assim, o gel coloidal resultará, provavelmente, numa matriz polimérica com maior porosidade e apresentando possibilidade de uma maior seletividade para o polímero^{13,84}. Já, o uso do catalisador ácido propicia ataques eletrofílicos, nas extremidades das cadeias, formando géis predominantes de cadeias lineares, com baixos volumes de poros, devido a velocidade de reação da condensação ser maior que a da hidrólise. Dessa forma, na catálise ácida observou-se menor FI para os materiais advindos dessa síntese.

Tabela 3. Matriz de triagem do planejamento fatorial 2³, em sua forma codificada e resposta (FI).

Ensaio	Fatores			
	Catalisador	Monômero Funcional	Agente de ligação cruzada	Fator de Impressão
1	-1	-1	-1	1,54
2	1	-1	-1	10,38
3	-1	1	-1	3,486
4	1	1	-1	8,733
5	-1	-1	1	0,47
6	1	-1	1	5,21
7	-1	1	1	2,74
8	1	1	1	4,26

Com objetivo de avaliar a significância estatística dos dados, procedeu-se à análise de efeitos sobre a variável resposta (FI). Analisando a influência de cada fator frente às variáveis respostas, procedeu-se à etapa de otimização dos fatores que apresentaram maior grau de significância no processo de síntese do MIP sol-gel. Pôde-se, também, observar pela Tabela 4 que o catalisador apresentou mudança do nível -1 para o +1, exercendo um efeito positivo sobre o FI, ou seja, o catalisador básico ocasionou um aumento do FI.

Com relação à interação MF e ALC, a variável não apresentou efeito significativo para o nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$) do estudo. Todavia, as proporções do ALC, nas sínteses de MIPs que empregam o processo sol-gel, ainda, não estão bem estabelecidas na literatura. Não se tem dados consistentes quanto aos

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

tipos e concentrações utilizadas, variando de trabalho para trabalho. Isso é diferente quando se trabalha com a rota orgânica dos MIPs de acrilato, que já possuem protocolos mais consolidados.¹⁸. Logo, apesar de os fatores não apresentarem significância, nesse estudo, não podem ser ignorados. Dessa maneira, procedeu-se a adição desse fator no refino dos estudos de síntese, por meio do emprego de um planejamento com triplicata, no ponto central.

Tabela 4. Valores dos efeitos da triagem dos fatores em estudo.

Fatores	Efeito	Desvio Padrão	Nível p	R ²
Média/Interação	4,60238	0,046625	0,006449	0,998
(1) Catalisador	5,08675	0,093250	0,011669	
(2) MF	0,40475	0,093250	0,144155	
(3) ALC	-2,86475	0,093250	0,020715	
Interação 1 com 2	-1,70325	0,093250	0,034819	
Interação 1 com 3	-1,95675	0,093250	0,030316	
Interação 2 com 3	0,25525	0,093250	0,222985	

Para o refino dos estudos, aplicou-se um segundo planejamento, com triplicata no ponto central, através da aplicação de um catalisador (básico), devido à sua relevância estatística para o FI, observada na etapa de triagem. Os níveis e fatores foram estabelecidos conforme a codificação estabelecida na Tabela 1, sendo que esse planejamento procurou evidenciar e estabelecer as concentrações de MF e ALC ideais. Os fatores e os FI obtidos, para cada síntese, estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Planejamento fatorial 2², com triplicata, no ponto central, em sua forma codificada e resposta (FI).

Ensaio	Fatores		
	Monômero Funcional	Agente de ligação cruzada	Fator de Impressão
1	-1	-1	10,38
2	1	-1	8,73
3	-1	1	5,21
4	1	1	4,26
5	0	0	7,0
6	0	0	7,3
7	0	0	7,5

Nesse tipo de planejamento (Tabela 5), as variáveis são estudadas com um maior número de níveis e, a partir disso constrói-se um modelo empírico que permite definir as melhores condições de trabalho. Pôde-se observar, pela Tabela 5, que ambos os reagentes nos níveis inferiores (-1) propiciaram MIPs com maiores FIs. Observou-se, também, que a mudança do nível -1 para o +1, para o ALC e o MF lineares, exerceram

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

um efeito negativo sobre o FI. Dessa maneira, quantidades menores de ALC e de MF proporcionaram maiores FI. Isso difere com o que ocorre com os MIPs orgânicos, em que há maior tendência a impressão com maiores concentrações de MF e ALC. Tendo em vista os valores decorridos dos desvios padrão, que serão representados pela Tabela 6.

Notou-se que todos os fatores principais foram significativos para o nível de confiança estabelecido, além disso, a menor proporção de ALC propiciou MIPs com maiores FIs. Isso pode estar relacionado à capacidade do ALC de silicato em propiciar sítios efetivos de interação com a CAF, por meio da ligação com os sítios Si-OH. Dessa forma, o número efetivo de interações aumenta, significativamente, considerando o MIP, em relação ao NIP. A interação binária entre MF e ALC apresentou-se, também, de forma significativa com relação ao nível de confiança estabelecido (0,05), mas com menor intensidade de contribuição do efeito para o FI, quando comparado com os efeitos principais. (Tabela 6).

Tabela 6. Cálculo dos efeitos e respectivos índices estatísticos para FI.

Fatores	Efeito	Desvio Padrão	Nível p	R ²
Média/Interação	7,19714	0,095119	0,000175	0,99375
(1) MF (L)	-1,30000	0,251661	0,035492	
(2) ALC (L)	-4,82000	0,251661	0,002715	
Interação 1 com 2	0,35000	0,251661	0,298830	

Diante dos resultados expressivos de FI, para os fatores empregados, refinou-se os estudos, por meio da aplicação do planejamento de operações evolucionárias (EVOP), considerando o ponto central estudado anteriormente. Portanto, essa ferramenta objetivou aprimorar o desempenho do MIP. Registra-se, ainda, que foi realizado um deslocamento para as condições mais favoráveis (proporção de MF e ALC) e o processo de síntese do MIP passou pelas condições definidas, tanto nos níveis inferiores como nos superiores^{1 11}. Também, foi realizado um novo planejamento experimental 2², com triplicata, no ponto central, variando as proporções dos fatores MF e ALC, conforme Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Fatores e níveis estudados no planejamento experimental EVOP.

Fatores	Níveis de variação dos fatores	
	-1	1
Monômero Funcional	1 mmol	2 mmol
Agente de Ligação Cruzada	2 mmol	8mmol

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

Tabela 8. Planejamento fatorial 2^2 , com triplicata no ponto central, em sua forma codificada e resposta (FI).

Ensaio	Fatores			de impressão
	Monômero Funcional	Agente de ligação cruzada	Fator	
1	-1	-1	2,7	
2	1	-1	5,3	
3	-1	1	7,9	
4	1	1	10,38	
5	0	0	6,4	
6	0	0	6,8	
7	0	0	6,5	

Por meio da Tabela 9, observa-se que o MF e o ALC (reagentes nos níveis superiores +1) apresentaram resposta significativa. No fator de impressão, constatou-se que o efeito do MF apresentou efeito significativo sobre a resposta e valores p, inferiores a 0,05. Verificou-se, ainda, que efeitos semelhantes foram observados para o ALC, além da interação entre os fatores em estudo.

Tabela 9. Cálculo dos efeitos e respectivos índices estatísticos para FI do planejamento EVOP.

Fatores	Efeito	Desvio Padrão	Nível p	R ²
Média/Interação	6,568571	0,064249	0,000002	0,99737
(1) MF (L)	2,540000	0,169986	0,000651	
(2) ALC	5,140000	0,169986	0,000079	
Interação 1 com 2	-0,060000	0,169986	0,747455	

Após a análise estatística dos coeficientes relativos à influência dos fatores e suas interações sobre as respostas, também, procedeu-se a análise da variância (ANOVA), com teste de Fisher e do R², tendo como finalidade verificar se o modelo representa um grau de ajuste adequado aos dados experimentais e se houve variações ou desvios nos resultados dos experimentos pelo ponto central em triplicata. Dessa forma, constatou-se um valor de R² 0,997, que indica significância estatística dos parâmetros e que o modelo quadrático representou bem a relação entre os efeitos e a resposta. Também, foi realizada a análise de variância (ANOVA) e aplicado o teste F, para verificar a significância da regressão (Tabela 10). Observando a mesma Tabela (Tabela 10), verificou-se que os modelos que apresentaram regressão significativa,

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

valor de $F_{\text{calculado}}$, para os resíduos em relação à regressão, foram elevados em relação ao F_{tabelado} ($F_{2,4} = 6,94$).

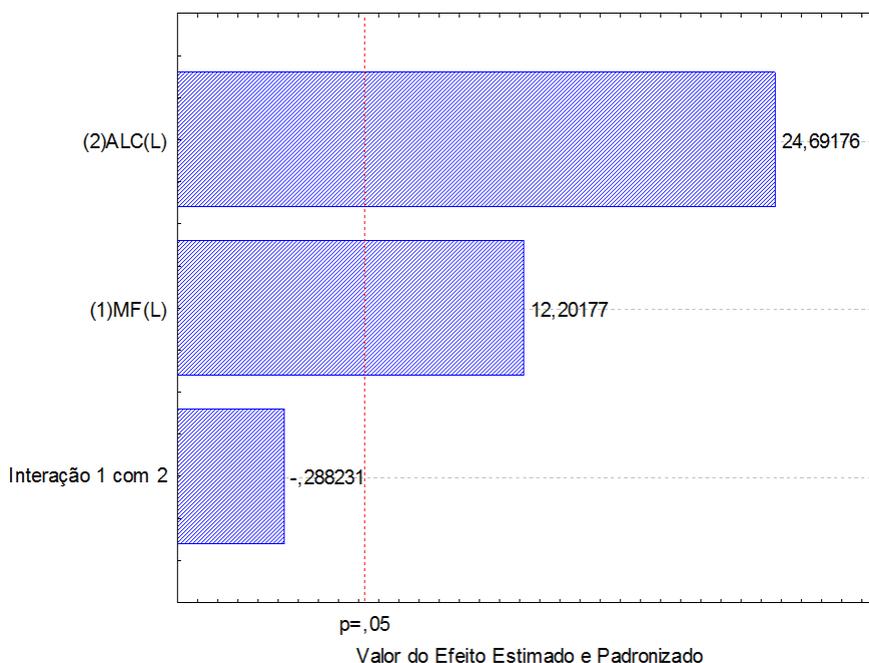
Assim, o modelo ajustado para a síntese do MIP se mostra adequado para fins preditivos da resposta e será confirmado pelos índices estatísticos apresentados pela Tabela 10. Logo, o modelo codificado proposto para representar a síntese do MIP, através do processo sol-gel, estará apresentado pela Equação 21.

$$\text{MIP} = 6,566 + 1,27\text{MF} + 2,54\text{ALC} \quad (21)$$

Tabela 10. Análise de variância para a FI do MIP (ANOVA).

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Médias Quadráticas	F Calculado
Regressão	32,874800	2	16,4374	758,08
Resíduo	0,086732	4	0,021683	$F_{\text{tab } 2,4} = 6,94$
F.Ajuste	0,00006	2	$3,2 \cdot 10^{-05}$	
Erro Puro	0,086668	2	0,043334	
Total	32,961532	6		

A Figura 10, apresenta o diagrama de Pareto para as análises, o qual se refere ao modelo para FI dos MIPs sintetizados pelo processo sol-gel híbrido, indicando os efeitos e as interações entre ambos, para um nível de significância de 95% de confiança. Através da representação gráfica, ficou nítida a informação que o fator MF e o ALC influenciaram, significativamente, no FI dos MIPs.



Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

Figura 10. Gráfico de Pareto para o fator de impressão.

Para esse modelo, os efeitos verificados foram positivos (Figura 11), indicando que as concentrações dos reagentes do nível baixo para o alto provocam uma elevação do fator de impressão com base na otimização. Os pontos de estudo para o ALC (TEOS) e para o MF (APTMS) foram determinados como 2 mmol e 8 mmol, respectivamente, para a síntese dos polímeros, conforme pôde-se observar pela Figura 11. A proporção de CAF e APTMS está diretamente relacionada com a quantidade de grupos funcionais presentes na MM e no MF, podendo contribuir para a formação de locais de impressão de alta afinidade. Quanto à molécula de CAF, que possui grupos funcionais para realizar a ligação de hidrogênio com o APTMS, constatou-se através desse estudo, que a proporção de 2:1 (CAF:APTMS) é favorável. Também, constatou-se que a quantidade de TEOS é de 8 mmol e a razão TEOS para APTMS é de 1:4, sendo favorável para formar uma rede reticulada na estrutura dos polímeros preparados. Essas quantidades, foram fixadas para os demais experimentos. Portanto, o MIP obtido será denominado HMIP-SG e seu controle HNIP-SG.

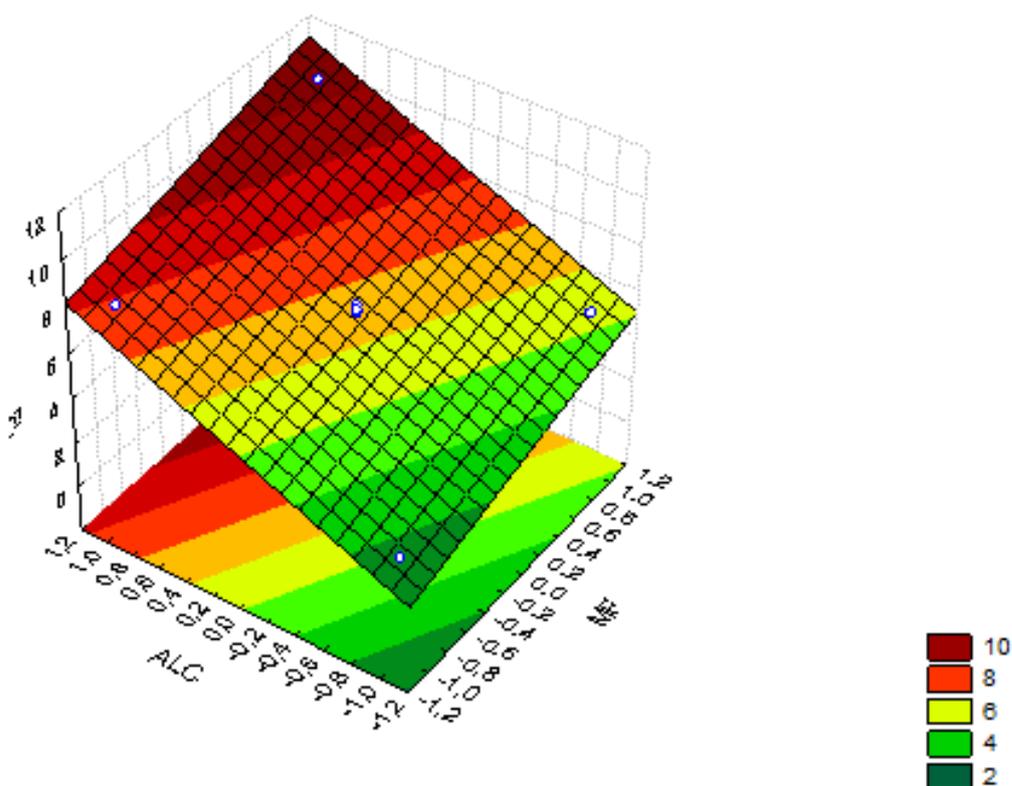


Figura 11. Superfície resposta para os fatores em estudo

3.3.2 Síntese do HMIP Sol-Gel em Superfície de Sílica

A impressão em superfície pode ser considerada como uma forma de impressão de fase sólida que envolve a formação de uma camada de MIP na superfície de uma partícula de sílica ativada. A partir das melhores condições de síntese otimizada, no item anterior, foi realizada a síntese sol-gel aliada à estratégia de impressão de superfície.

A sílica gel é um polímero inorgânico amorfo com grupos siloxano (Si-O-Si) e silanol (Si-OH) em sua superfície. O último é responsável pela modificação química que pode ocorrer na superfície da sílica, propiciando às ligações dos monômeros da síntese. Como a sílica gel comercial contém uma baixa concentração de grupos silanóis superficiais e adequados para ligações, se faz necessária a ativação de sua superfície, que pode ser realizada com solução de HCl ($6,0 \text{ mol L}^{-1}$).

Os grupos silanóis disponíveis na sílica ativada reagem com os reagentes de organossilano (APTMS/TEOS) para formar fases ligadas, enquanto que o grupo amina do MF (APTMS) interage com os grupos hidroxila da sílica, propiciando a ligação na superfície. O TEOS atuou como agente de ligação cruzada para criar a moldura do polímero sintetizado, de modo que se realize a estabilização dos sítios de reconhecimento da CAF no polímero sintetizado. Enquanto que a MM foi removida da superfície da sílica. As quantidades de APTMS e TEOS determinam a espessura da camada de MIP impressa na superfície da sílica e vai aumentando com quantidades crescentes de APTES e TEOS, conforme o que será apresentado pelo esquema da Figura 12. O HMIP obtido será denominado HMIP-SI e seu controle HNIP-SI.

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

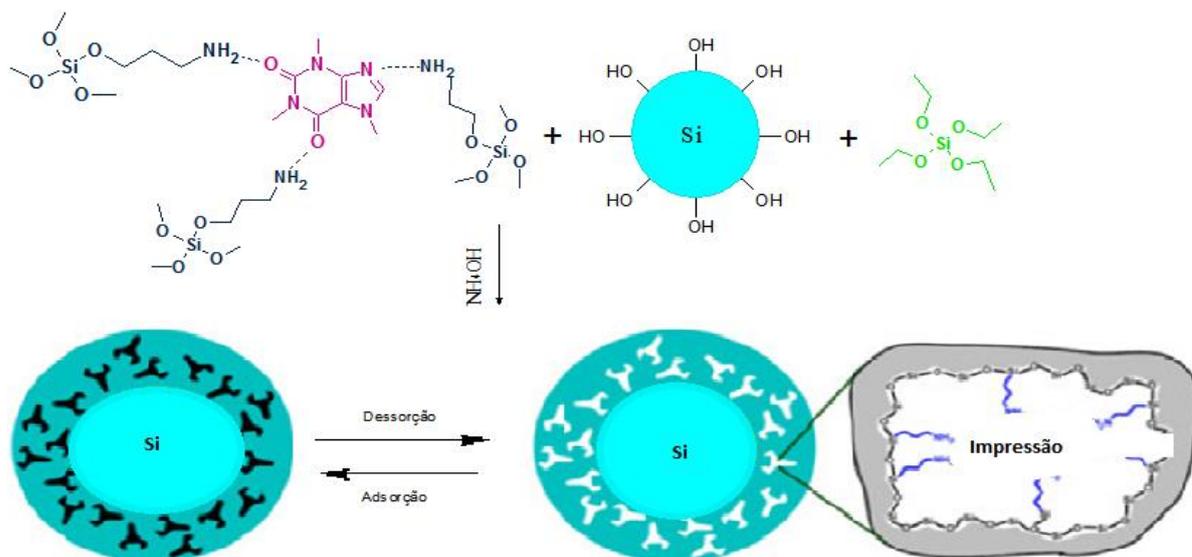


Figura 12. Esquema de síntese da CAF-MIP pelo processo sol-gel e a técnica de impressão de superfície (adaptado Zhi ¹¹⁸).

3.3.3 Caracterização Química e Estrutural dos Polímeros

A seguir, serão apresentados os resultados das caracterizações dos HMIPs e HNIPs realizados por meio do processo sol-gel híbrido para ambas as sínteses.

3.3.3.1 Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR)

A Figura 13 apresenta o espectro de absorção, na região do infravermelho, dos HMIPs e HNIPs obtidos. Ainda, constatou-se, qualitativamente, que os espectros são similares, evidenciando a preparação bem-sucedida dos HMIPs. Observam-se vibrações de estiramento dos grupos hidroxilas (3420 cm^{-1}) que podem corresponder à água remanescente adsorvida e ao modo de vibração de deformação axial da hidroxila do grupo Si-OH que, também, foi observada por Silva e Augusto 2006¹³. As bandas em 2930 cm^{-1} é um sinal associado às ligações C-H.

Em 1639 cm^{-1} , surgiu uma banda que pode ser atribuída às vibrações angulares das moléculas de água, além da banda 1380 cm^{-1} que se refere ao estiramento da amina primária presente no monômero funcional (APTMS) e ao reagente de ligação cruzada TEOS. As bandas 761 cm^{-1} podem ser atribuídas a grupos silanóis livres (Si-OH), semelhantes à síntese sol-gel de MIP, para extração de bisfenol, realizada por Yu e colaboradores em 2015¹¹⁹. O agrupamento Si-O-Si apresenta banda próxima a 470 cm^{-1} , referente à sua deformação e, ainda, há uma intensa banda 1070 cm^{-1} referente ao

seu estiramento assimétrico, sugerindo densa rede de silício e oxigênio, observado por Jin e Tang em 2009¹²⁰.

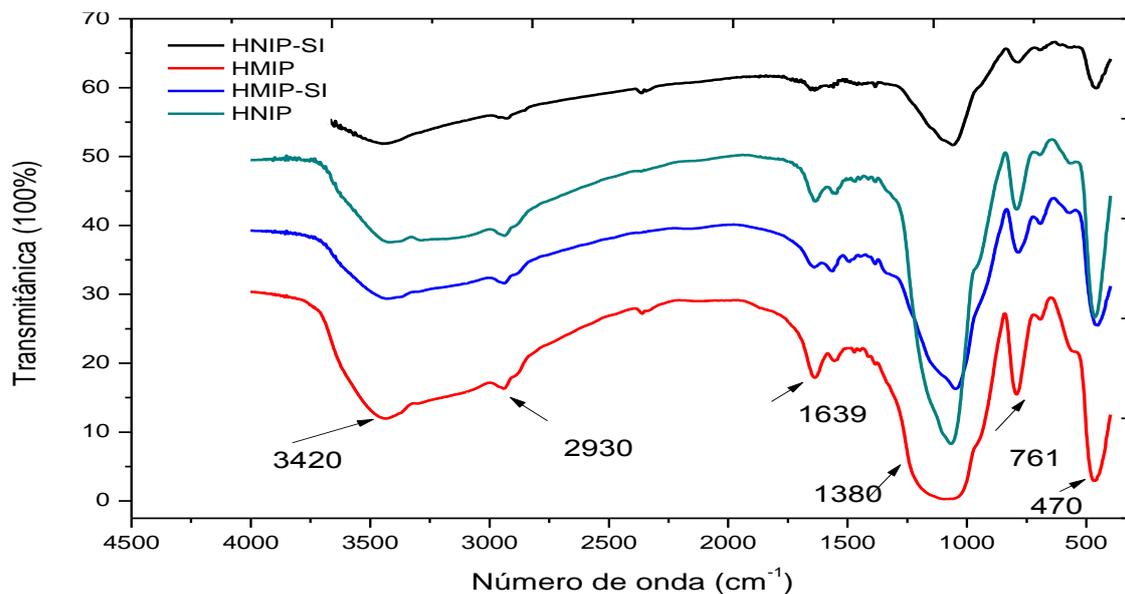


Figura 13. Espectro de absorção no infravermelho para os polímeros sol-gel híbridos.

Os espectros obtidos de IV são consistentes com materiais modificados por grupos aminopropila⁸⁵. Como esperava-se, não há diferenças significativas entre os espectros de infravermelho dos HMIPs e HNIPs, já que a diferença entre os dois é, essencialmente, morfológica e não por composição química, uma vez que a estrutura polimérica é a mesma. A presença da CAF, durante as etapas de hidrólise e condensação, não alterou a composição química do polímero híbrido, sendo comprovado pela ausência de bandas características da molécula de CAF, em ambas as sínteses, indicando que o processo de remoção de CAF foi eficiente.

3.3.3.2 Termogravimetria (TGA)

A estabilidade térmica dos HMIPs foi avaliada por medidas termogravimétricas, cujos resultados estão apresentados pela Figura 14. Em todas as curvas ocorreu um evento de perda de massa entre 50 e 130°C, que pode ser atribuída à vaporização de compostos voláteis remanescentes da reação (metanol, etanol, água) ou reagentes não consumidos (APTMS, TEOS) que ficaram sorvidos ou oclusos ao material. Observou-se, ainda, que ocorreu uma diminuição significativa de massa, acima de 300 °C, ocasionada pela perda de matéria orgânica e de grupos hidroxilas e silanois (desidroxilação) com formação de siloxanos, fenômeno que continua ocorrendo em temperaturas acima de 700°C. Portanto, em temperaturas inferiores a 300°C, pode-se

considerar a temperatura limite (máxima) para uma possível aplicação, envolvendo a dessorção térmica de analitos.

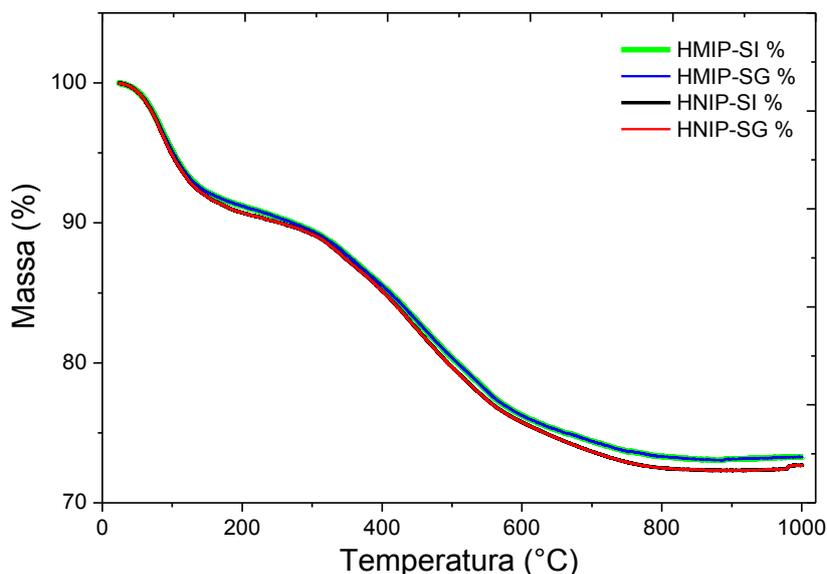


Figura 14. TGA dos polímeros MIPs/NIPs sol-gel híbridos.

3.3.3.3 Porosimetria

A porosidade refere-se à quantidade, número e volume de poros num determinado material, porém a porosidade da partícula é definida como a razão entre o volume de poros abertos e o volume total de poros da partícula. As características de porosimetria dos polímeros sintetizados foram investigadas, utilizando isoterma de adsorção/dessorção de nitrogênio pelo método BET (Tabela 11). A área superficial específica do HMIP-SG foi 1,8 vezes maior que o HMIP-SI e os valores de volume dos poros de HMIP-SG foram, aproximadamente, duas vezes maiores que a observada para o HMIP-SI.

Também, observou-se que os HMIPs apresentam, claramente, uma maior área específica em comparação com seus HNIPs correspondentes, provavelmente, possibilitará maior capacidade de sorção. Isso se deve à rede tridimensional, relativamente aberta, devido à presença do complexo formado entre os monômeros ao redor das moléculas moldes, durante a polimerização, características presentes em outros polímeros sintetizados pelo mesmo método^{85,87}. O diâmetro médio dos poros de ambos os HMIPs são semelhantes, sugerindo que, de fato, a presença da CAF contribuiu, principalmente, para a formação dos poros da rede polimérica pelo processo sol-gel.

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

Os dados porosimétricos revelaram que os HMIPs foram formados, especialmente, por mesoporos, considerados mais desejáveis para a aplicação da extração em fase sólida, se comparados aos microporos ou macroporos, devido à boa permeabilidade ao solvente e fácil difusão dos analitos alvos. Além disso, a diferença de tamanho do poro entre o HMIP e HNIP está associada à presença da molécula molde, durante o processo de síntese dos HMIPs, gerando um polímero híbrido com estrutura diferente do HNIPs.

Tabela 11. Porosimetria dos HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.

	Área específica BET (m^2g^{-1})	Tamanho Médio de Poros (Å)	Volume de Poros (cm^3g^{-1})
HMIP-SG	130,720	57,825	0,452
HNIP-SG	67,326	20,955	0,169
HMIP-SI	72,745	55,279	0,221
HNIP-SI	28,379	38,381	0,077

3.3.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

A Figura 15 apresenta as micrografias dos HMIPs/HNIPs sol-gel híbrido com aumento de 500 e 10.000 vezes. Observou-se a partir das imagens de 500 vezes, que as partículas apresentaram formas e tamanhos irregulares, devido ao processo de maceração após a síntese. Quando foi aplicado um aumento de 5.000 vezes, verificou-se que apenas o polímero de HMIP-SG apresentou porosidade perceptível, enquanto que o HMIP-SI e ambos os HNIPs obtiveram uma superfície mais lisa, compacta e com pequenos aglomerados de micropartículas irregulares. O HMIP-SI apresentou menor quantidade de poros, fato que se assemelha ao estudo da porosimetria. Constatou-se, ainda, que todos os resultados obtidos para a morfologia das partículas de sílica, observadas nas micrografias, foram concordantes com os resultados da porosimetria apresentada na seção anterior.

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

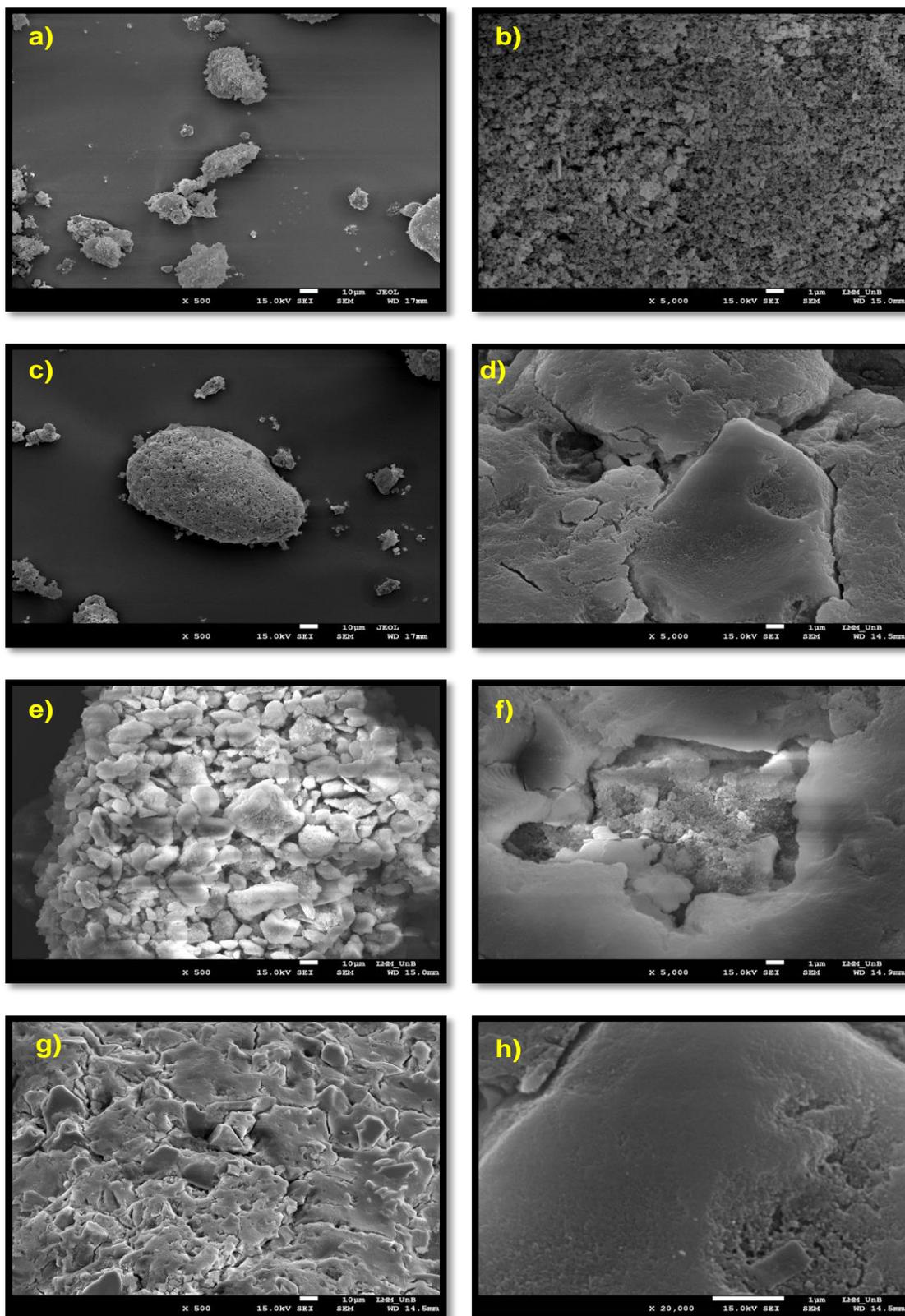


Figura 15. Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos polímeros HMIP-SG (a e b), HNIP-SG (c e d), HMIP-SI (e e f) e HNIP-SI (g e h). As imagens foram ampliadas em 500 e 5.000 vezes.

3.3.4 Cinética e equilíbrio de adsorção dos HMIP

Os gráficos dos efeitos, com relação aos estudos cinéticos, podem ser observados na Figura 16. Nesse estudo, verificou-se que a quantidade de CAF adsorvida pelos polímeros impressos aumentaram com o tempo até atingir um estado de equilíbrio. Os tempos necessários para atingir a capacidade máxima e equilíbrio de adsorção de CAF entre a fase sólida e a líquida foi de 60 min (Q_e para o HMIP-SI foi $0,55 \text{ mg g}^{-1}$) e 120 min (Q_e para o HMIP-SG foi $0,75 \text{ mg g}^{-1}$).

A impressão, em superfície, que possui como característica inerente a técnica, é considerada uma cinética adsortiva maior que os não sintetizados por este método⁹⁰. Nesse sentido, o resultado empírico observado corroborou com esse dado, visto o menor tempo para atingir o equilíbrio para o HMIP-SI, em comparação com o HMIP-SG. Situação comprovada pela redução no equilíbrio cinético de adsorção. Esse tempo é de extrema importância quando se deseja utilizar o MIP como fase sólida, visto a projeção do tempo de contato e a capacidade adsortiva esperada do material em relação ao tempo de extração da solução de amostra⁸⁹.

Apesar da adsorção da CAF no HMIP-SG necessitar de um tempo maior de equilíbrio, a quantidade adsorvida é relativamente maior quando comparada ao HMIP-SI. Nesse caso, a maior adsorção está relacionada à maior área superficial e volume dos poros que foi observada pela análise de adsorção de BET (Tabela 11). Nota-se que os MIPs apresentaram capacidade adsortiva muito superiores (~5,0 vezes mais) aos polímeros não impressos, como poderá ser observado pela Figura 16. Isso se deve, provavelmente, à presença das cavidades com afinidade pela CAF (cavidade seletiva) resultantes do processo de síntese.

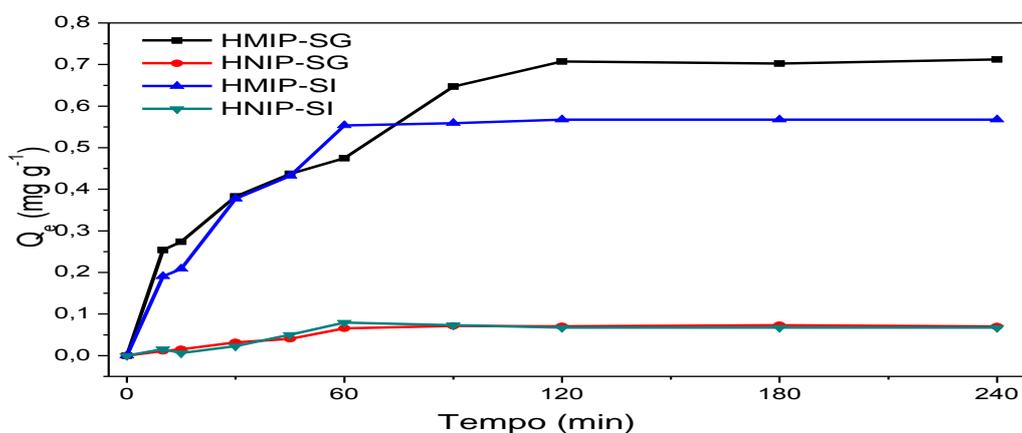


Figura 16. Efeito do tempo na adsorção de CAF pelos HMIP-SG, HMIP-SI, HNIP-SG e HNIP-SI.

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

Os dados experimentais foram ajustados aos modelos de pseudo-primeira ordem e aos de pseudo-segunda ordem, para descrever como ocorre a cinética de adsorção nesses materiais. Na Tabela 12, estarão descritos os parâmetros determinados por cada modelo linear obtido a partir dos polímeros sintetizados^{66,107}.

Tabela 12. Parâmetros cinéticos para os HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.

Polímero	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem		
	K_1 (min^{-1})	Q_e (mg g^{-1})	R^2	K_2 (min^{-1})	Q_e (mg g^{-1})	R^2
HMIP-SG	0,019	0,477	0,90	0,054	0,77	0,99
HNIP-SG	0,0036	0,08	0,66	0,29	0,086	0,90
HMIP-SI	0,034	0,34	0,83	0,03	0,64	0,96
HNIP-SI	0,0108	0,046	0,40	0,166	0,094	0,62

Dessa forma, os ajustes indicaram que a adsorção de CAF nos HMIPs ocorreu, via mecanismo de pseudo-segunda ordem (Tabela 12), com coeficiente de determinação igual a 0,99 e 0,96 respectivamente. Outro fator relevante foram os valores teóricos de Q_e (mg L^{-1}), estimados para ambos os HMIPs, que se aproximaram ao valor obtido experimentalmente. Isso indica bom ajuste do modelo aos dados empíricos. Assim, sugere-se que a adsorção é proporcional ao quadrado do número de locais desocupados e que o adsorbato (CAF) pode se ligar a dois locais ativos com diferentes energias de ligação.

Comparando os valores da constante cinética k_2 , entre os HMIPs e HNIPs, constatou-se que os valores obtidos para os HMIPs são inferiores, resultando em adsorção de forma mais lenta que pode, também, estar relacionada a mecanismos difusivos visto a maior área superficial desses materiais. Portanto, a descrição do modelo apresentou-se adequada às propriedades heterogêneas desses HMIPs que possuem em sua matriz polimérica tipos diferentes de locais de adsorção e que podem ocorrer por mecanismo de quimissorção e/ou fisissorção¹¹².

Com a finalidade de avaliar as propriedades de reconhecimento molecular e estudar a natureza das interações, que são estabelecidas entre a molécula de CAF e os locais de ligação existentes nos HMIPs/HNIPs, realizou-se um estudo de equilíbrio de adsorção. Os resultados experimentais demonstrados pela Figura 17 demonstram que, em ambos os HMIPs, a quantidade de CAF adsorvida aumentou com o incremento da concentração inicial de CAF. O aumento progressivo da referida concentração, em

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

solução, levou à ocupação gradual de um maior número de cavidades nas matrizes poliméricas, ocasionando o aumento da capacidade de reconhecimento molecular. Porém, observando a adsorção dos HMIPs, a partir da concentração de 12 mg L^{-1} , a quantidade de CAF ligada permaneceu constante com o incremento da concentração, revelando que nessa concentração os locais de ligação se encontram, completamente, preenchidos. A Q_e , para o polímero HMIP-SG, foi de $1,9 \text{ mg g}^{-1}$, enquanto que o polímero sintetizado, em superfície, teve uma capacidade adsortiva inferior ($1,3 \text{ mg g}^{-1}$) – Figura 17.

Sob o ponto de vista da aplicação, os resultados foram satisfatórios, uma vez que a cinética do polímero impresso, em superfície, foi mais rápida, aumentando a frequência amostral num potencial método de preparo de amostra. A impressão da CAF e o reconhecimento molecular pode ser atestado quando se avalia o FI no equilíbrio. Os resultados demonstram que os HMIP-SG/NIP-SG e HMIP-SI/NIP-SI preparados no processo sol-gel híbridos obtiveram (FI) 22,5 e 6 respectivamente. Comparando esses dados aos de estudos da literatura, que sintetizaram HMIPs para a cafeína, observou-se valores inferiores, variando de 1,7 a 20,5, porém este estudo não fez uma ampla caracterização e o material não foi seletivo à cafeína, houve adsorção dos análogos estruturais ^{11,13,39,121–123}. Tal comparação demonstra a efetividade do planejamento fatorial em otimizar a síntese do MIP, proporcionando um material com seletividade superior aos encontrados na literatura, sendo até 13 vezes mais seletivo à CAF que materiais já relatados pela comunidade científica.

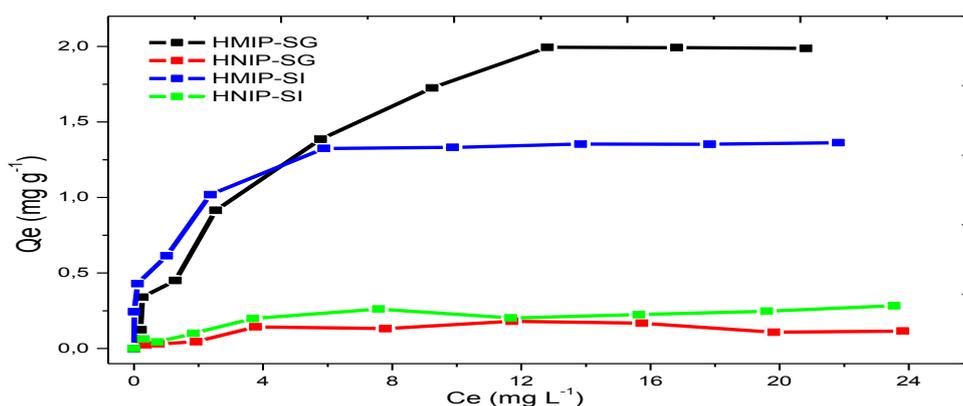


Figura 17. Dados experimentais obtidos para construção das Isoterma de adsorção dos HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.

Geralmente, empregam-se os modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich para interpretar os dados experimentais de adsorção. Entretanto, essa forma simplificada não considera que na análise dos dados, muitas vezes, se revelam desvios

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

sistemáticos da isoterma ajustada. Nesse sentido, os múltiplos parâmetros de uma isoterma são mais ajustáveis através de um método de regressão não linear^{66,124}. Para isso, os modelos aplicados foram os não lineares de Langmuir, os não lineares de Freundlich e, ainda, o modelo híbrido Langmuir-Freundlich com um e dois sítios de adsorção, como poderemos observar pela Figura 18 e Tabela 13.

O modelo Langmuir-Freundlich, (Figura 18) com dois sítios, apresentou o melhor ajuste, baseado na similaridade das Q_e de 1,9 e 1,3 mg g^{-1} , para o HMIP-SG e o HNIP-SI, respectivamente, em comparação aos valores preditos pelo modelo (Tabela 13, $b_1 + b_2$), sendo 2,2 e 1,6 mg g^{-1} respectivamente. Os HNIPs apresentaram valores de b muito inferiores aos seus respectivos HMIPs, concordando, também, com os dados experimentais. A diferença entre valores de K_1 e K_2 demonstraram a presença de sítios com afinidades maiores e menores.

A partir desses resultados, pode-se inferir que o modelo Langmuir-Freundlich, para dois sítios de adsorção, descreveu mais adequadamente a isoterma de adsorção para a CAF, em ambos os polímeros sintetizados, pelo método sol-gel híbrido (Figura 18 e Tabela 13). Dessa forma, esse modelo sugere que há sítios com diferentes energias de adsorção nos materiais: os homogêneos e os heterogêneos. Assim, o material pode ser composto por sítios que adsorvem a CAF, provavelmente, de processos físicos com menores valores de energia de ligação e, ainda, de maiores energias de ligação por processos químicos, obedecendo preenchimentos distintos em mono e multicamadas.

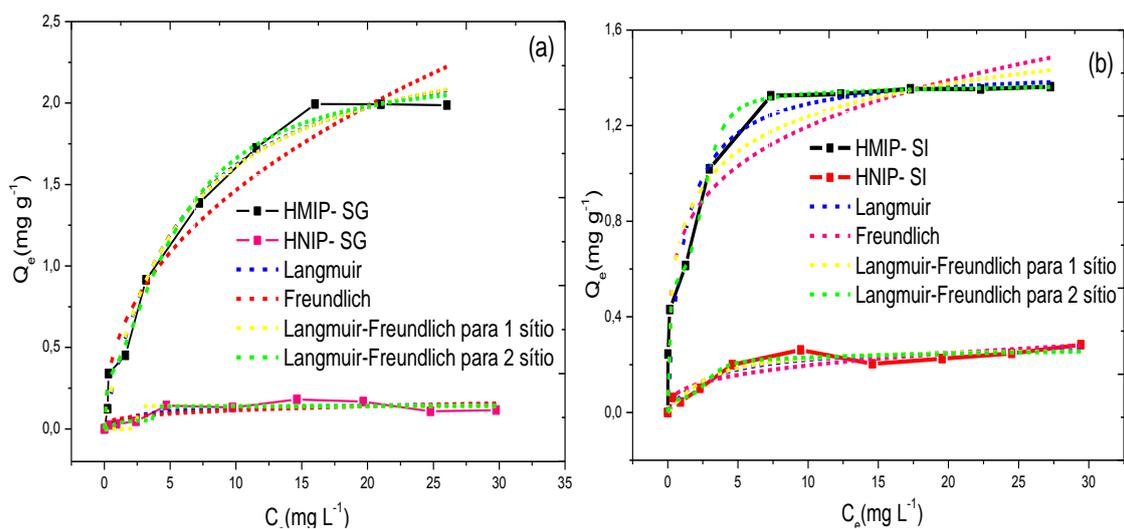


Figura 18. Isothermas de adsorção dos HMIP/HNIP (a) HMIP-SG e HNIP-SG, (b) HMIP-SI e HNIP-SI com os ajustes para os modelos descritos na Tabela 13.

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

Tabela 13. Parâmetros das isotermas de adsorção para osHMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.

Polímero	Não Linear de Langmuir			Não Linear de Freundlich		
	$Q_e = \frac{K_L b C_e}{1 + K_L C_e}$			$Q_e = K_F C_e^{1/n}$		
	K_L	b	R ²	K_F	N	R ²
HMIP-SG	1,45	2,52	0,98	0,5	4,24	0,88
HNIP-SG	1,02	0,161	0,76	0,07	2,13	0,63
HMIP-SI	0,43	1,44	0,93	0,62	4,65	0,95
HNIP-SI	0,17	0,28	0,91	0,07	3,04	0,87

Polímero	Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção				Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção							
	$Q_e = \frac{b_1(K_1 C_e)^{n_1}}{1 + (K_1 C_e)^{n_1}}$				$Q_e = \frac{b_1(K_1 C_e)^{n_1}}{1 + (K_1 C_e)^{n_1}} + \frac{b_2(K_2 C_e)^{n_2}}{1 + (K_2 C_e)^{n_2}}$							
	K_1	b_1	n_1	R ²	K_1	b_1	n_1	K_2	b_2	n_2	R ²	
HMIP-SG	1,6	0,88	1,66	0,96	0,9	1,9	1,6	0,57	0,3	150	0,99	
HNIP-SG	1,1	0,04	1,4	0,95	0,14	0,06	1,45	1,11	0,08	180	0,97	
HMIP-SI	0,14	2,03	0,42	0,98	6,92	0,76	0,42	0,18	0,65	4,36	0,99	
HNIP-SI	0,20	0,27	1,19	0,80	0,16	0,13	4,91	0,0	2,44	0,22	0,90	

Nota: Q_e é a quantidade de sorvido por grama de sorvente; C_{eq} é a concentração de equilíbrio da solução ($mg L^{-1}$); K_L é a constante de sorção de Langmuir ($L mg^{-1}$); K_F é a constante de Freundlich relacionada à capacidade de sorção ($mg g^{-1}$) ($L g^{-1}$); n é a constante relacionada à intensidade de sorção ou grau de sorção; n_1 e n_2 são os fatores de heterogeneidade; b é a constante relacionada à capacidade máxima de sorção ($mg g^{-1}$) e K , da equação de Langmuir-Freundlich, representa as afinidades sorbato-solventes.

3.3.5 Parâmetros Termodinâmicos

Os parâmetros termodinâmicos, como variação da energia livre de Gibbs (ΔG), variação da entalpia (ΔH) e variação da entropia (ΔS), são os indicadores do processo de adsorção. Esses parâmetros foram determinados por meio da análise linear da equação de Van't Hoff.

De acordo com a Tabela 14, pôde-se observar que os valores para a ΔG , foram negativos, nas diferentes temperaturas estudadas, indicando a natureza espontânea e favorável da sorção da CAF pelo HMIP. Esses valores tornam-se mais negativos com a diminuição da temperatura, demonstrando que nas temperaturas inferiores favorece a sorção da CAF ao material. Os valores negativos de ΔS indicam uma diminuição da desordem na interface sorvente-sorbato durante o processo de sorção de CAF. O ΔH para o HMIP foi negativo, indicando a natureza exotérmica do processo de sorção. A

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

magnitude do valor ΔH nos permite obter uma visão mais detalhada sobre a natureza da energia de ligação da sorção, podendo prever a ocorrência de ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais (amina e amida) presentes na CAF, com relação aos grupos amina do APTMS, já que as energias associadas às ligações de hidrogênio variam de 5 a 20 kJ/mol¹⁰². A correlação linear para os polímeros controles se apresentou muito baixa, demonstrando dados não conclusivos para este estudo e, portanto, não foram apresentados.

Tabela 14. Parâmetros Termodinâmicos para os HMIPs sol-gel híbridos.

Polímero	ΔH_{ads} (kJ mol ⁻¹)	ΔS_{ads} (J mol ⁻¹)	ΔG_{ads} (kJ mol ⁻¹)				
			Temperatura (K)				
			283,15	293,15	303,15	313,15	323,15
HMIP-SG	-12,74	-8,7	-10,23	-10,2	-10,1	-10,02	-9,93
HMIP-SI	-21,68	-44,13	-9,2	-8,7	-8,3	-7,9	-7,4

3.3.6 Estudos de Seletividade

Para comprovar a presença de cavidades, com afinidade à CAF, foram realizados estudos de adsorção competitiva, através de uma solução ternária com moléculas análogas à CAF: a teofilina (TEF) e a teobromina (TEB) (Figura 19), por meio da utilização de polímeros impressos e não impressos.

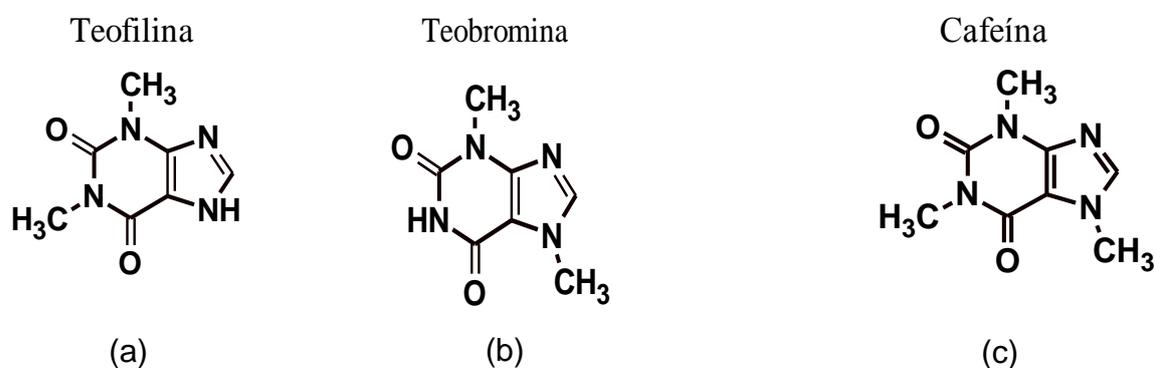


Figura 19. Estrutura molecular dos análogos empregados nos ensaios de seletividade TEF (a), TEB (b) e (c) CAF.

A fim de quantificar as espécies, foi empregado o método cromatográfico descrito em 3.2.11, pela Tabela 15, e os tempos de retenção que foram identificados em 5 min para a TEB, 6 min para a TEF e 7 min para a CAF. Os limites de detecção

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

(LOD) e de quantificação (LOQ), dos métodos empregados, foram estimados conforme a ANVISA¹²⁵, considerando as Equações 22 e 23 abaixo, em que s é o desvio padrão dos resíduos e b a inclinação da curva analítica. Os parâmetros analíticos do método de quantificação dos analitos estão descritos pela Tabela 15.

$$LOD = \frac{3,3s}{b} \quad (22)$$

$$LOQ = \frac{10s}{b} \quad (23)$$

Tabela 15. Parâmetros analíticos de quantificação da CAF, TEB e TEF.

Analito	Faixa linear (µg L ⁻¹)	Resposta Linear	R ²	LOD (µg L ⁻¹)	LOQ (µg L ⁻¹)
CAF	50 – 1000	y = 69,17 [CAF] + 282,46	0,9998	1,55	5,18
TEB		Y=4231,3 [TEB] + 85014	0,99915	2,48	12,99
TEF		y = 4087,1 [TEF] + 52910,55	0,99981	2,58	22,29

Na Tabela 16, observa-se que o K_d para os HMIPs apresentou maior distribuição da CAF, na superfície, superior dos polímeros controles, uma vez que os valores de k, encontrados para o HMIP-SG, para os análogos TEF e TEB, foram 21,8 e 9,1, respectivamente, e esses foram superiores aos resultados do HMIP-SI 4,1 e 4,4 respectivamente. De acordo com o estudo, pode-se observar que o HMIP apresentou k' 15,2 e o HMIP-Si 4,2, demonstrando que os dois materiais apresentaram sítios seletivos à CAF, quando comparados aos seus polímeros controles. Tal fato sugere que a sorção da CAF ocorre, preferencialmente, nos sítios seletivos para o HMIP e indicam homogeneidade e acessibilidade aos sítios dos polímeros impressos, que demonstraram a impressão de cavidades efetivas. Todavia, observou-se que o HMIP-SG apresentou uma quantidade maior de sítios seletivos se comparado ao HMIP-SI, podendo estar relacionados a menor área superficial indicada por esse material, com relação ao estudo porosimétrico.

Tabela 16. Parâmetros relacionados ao efeito de impressão (k_d, k, k') do HMIPs/HNIPs sol-gel híbridos.

Adsorvente	K _d (mL g ⁻¹)			K		K'
	CAF	TEF	TEB	TEF	TEB	HMIP/HNIP
HMIP-SG	24,53±0,017	1,12±0,14	2,71 ±0,014	21,8	9,1	15,3

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

HNIP-SG	1,6±1,04	3,85±0,9	3,7±0,4	0,96	2,3	4,2
HMIP-SI	12,8±0,013	2,9±0,2	3,1±0,6	4,1	4,4	
HNIP-SI	3,03±0,78	4,9±0,43	2,15±1,4	0,6	1,2	

Ressalta-se que os resultados da capacidade máxima de adsorção, por meio deste estudo, para o polímero o HMIP-SG, é duas vezes maior aos sintetizados em superfície. Isso pode ter ocorrido em razão de as partículas de sílicas serem irregulares, conforme constatado no estudo de Keke e colaboradores (2018)¹¹⁸. Esses avaliaram diferentes formas de sílica para a impressão em superfície e verificaram que a sílica irregular possui baixa capacidade adsorviva.

Diante dos resultados superiores apresentados pelo HMIP-SG, em todos os ensaios realizados, aplicou-se o HMIP-SG para desenvolver um preparo de amostra na extração, em fase sólida, molecularmente impressa (MISPE), a fim de extrair a CAF em amostras de águas superficiais.

3.3.7 Avaliação do desempenho analítico da MISPE

Para avaliar a eficiência de adsorção da CAF na MISPE, utilizou-se soluções ternárias, contendo CAF, TEB e TEF. O estudo foi conduzido conforme procedimento descrito no item 3.2.12.3. A Figura 20 demonstra os cromatogramas obtidos para a injeção direta da solução ternária e percolados, após a passagem da solução, nos cartuchos MISPE. Quando comparados, os cromatogramas corroboram para a eficácia do HMIP-SG, para extrair seletivamente a CAF, visto a magnitude e a presença, apenas, do pico para a CAF quando aplicada a amostra. Constatou-se, também, menor magnitude para o pico da CAF obtido, após a extração com o NISPE (SPE com o polímero não impresso), atestando a extração por cavidades seletivas pelo HMIP-SG. O fator de impressão **IF** (Equação 9) do método foi estimado em $21,5 \pm 1,4$, muito próximo ao observado nos estudos de adsorção do equilíbrio do polímero em análise (22,5). Isso demonstra que as condições físicas de extração do método SPE não prejudicou a alta seletividade do MIP, mantendo sua performance de reconhecimento molecular. Além disso, a retenção de TEB e TEF, na MISPE, indica que a CAF é adsorvida por interações específicas no HMIP-SG.

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

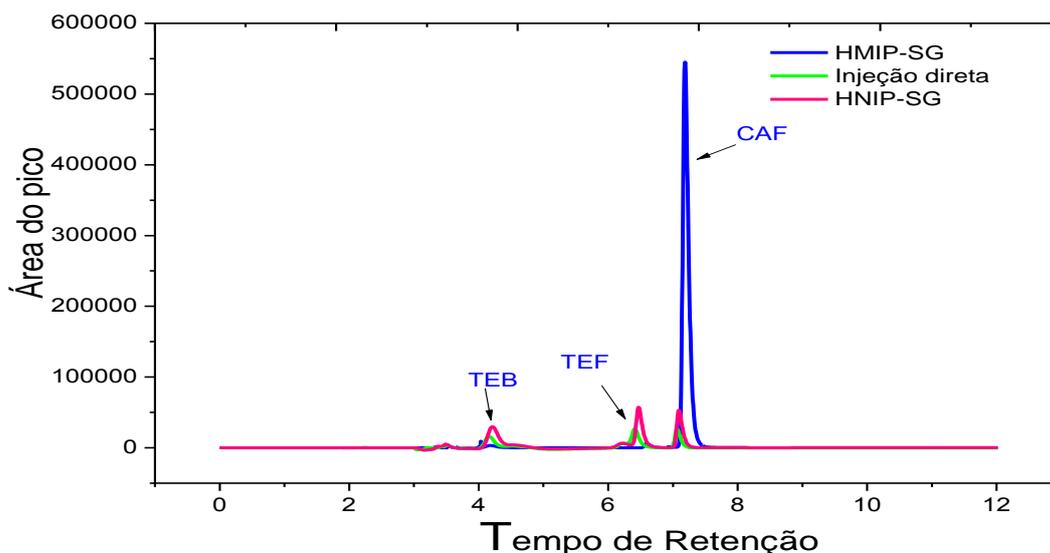


Figura 20. Separação cromatográfica (—) HMIP-SG, (—) HNIP-SG e (—) Injeção direta com a mistura ternária CAF, TEB e TEF

3.3.7.1 Volume breakthrough e capacidade adsortiva da MISPE

O volume de ruptura ou volume de *breakthrough*, é considerado um fator relevante para avaliar o volume de solvente que pode ser percolado na MISPE sem a lixiviação dos analitos. O volume de ruptura depende da concentração de substâncias, quando se pretende analisar a solução carregada ao solvente, à temperatura e à vazão, dependente das propriedades cinéticas da fase sólida¹²⁶.

Vale dizer que a curva de ruptura foi construída, de forma empírica e *off line*, de acordo com o item 3.2.12.4, enquanto que os resultados estarão demonstrados pela Figura 21. O volume estimado para esse sistema foi de 500 mL, sendo apresentado o primeiro sinal detectável de CAF. Esse dado corresponde ao volume máximo de amostra que pode ser percolada pelo MIP, sem perda considerável na massa de CAF, considerando a detecção empregada. Esse valor pode ser maior em vazão maior e, em concentrações menores, do analito. Portanto, pode-se concluir que o HMIP-SG pode ser utilizado como adsorventes da SPE para análises ambientais e, geralmente, aplicam-se grandes volumes de amostras, devido às baixas concentrações de CAF.

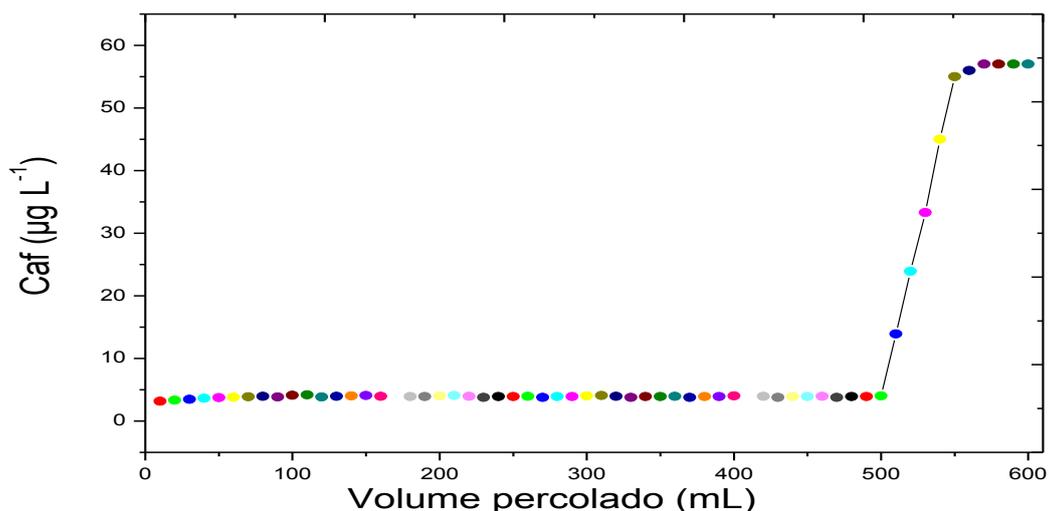


Figura 21. Curva de *breakthrough* empírica para o HMIP-SG como fase sólida.

3.3.7.2 Estudo de reutilização

A fim de investigar o desempenho da regeneração da HMIP-SG, foram aplicados procedimentos de extração em que os ciclos de dessorção e adsorção foram repetidos 26 vezes. Podemos observar pela Figura 22 que a capacidade de adsorção/dessorção diminuiu, ligeiramente, de 99,47 para 98,32% e do ciclo 24, para o de 25. Como pôde ser notado, houve uma perda de 11,5 % na capacidade de sorção do HMIP. O estudo adsorção-dessorção demonstrou excelente capacidade de reutilização com uma eficiência de sorção praticamente inalterada por até 24 ciclos. A alta reutilização apresentada, pela fase sólida sintetizada, demonstra a excelente adequabilidade da fase sólida em se desenvolver materiais sustentáveis e métodos de análise, ambientalmente, amigáveis. Além disso, o custo efetivo de uma fase sólida reutilizável impacta em métodos, economicamente, viáveis diminuindo o custo financeiro do método analítico.

Planejamento fatorial da síntese de polímero molecularmente impresso híbrido pelo processo sol-gel

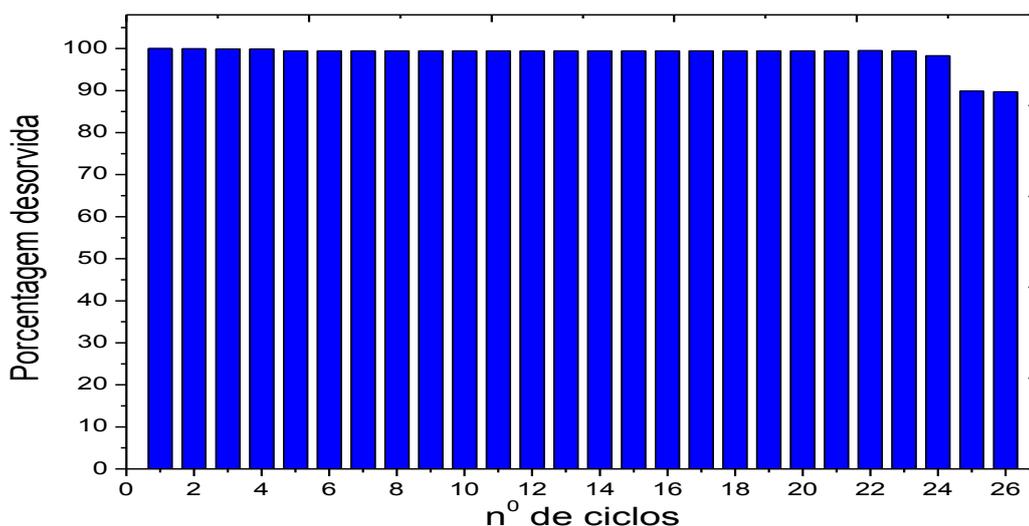


Figura 22. Os ciclos de reutilização do HMIP de CAF.

3.3.7.3 Aplicação em Amostras de Águas Superficiais

Assim, aplicou-se o método MISPE estabelecido para a extração da CAF, em amostras de água superficial, do lago Paranoá-DF. Após condicionar as fases sólidas, as amostras foram percoladas pelo MISPE, de acordo com o procedimento otimizado. Os resultados de recuperação estão descritos pela Tabela 17. Observou-se que não foi possível detectar a CAF na amostra sem fortificação. Já para as amostras fortificadas e os valores de recuperação foram maiores que 90% para as duas concentrações analisadas. Esses resultados corroboram com a exatidão e a seletividade do método para extrair a CAF, em amostras complexas ambientais, como as de águas superficiais.

Tabela 17. Recuperação da CAF em amostras de água superficial.

Amostra	CAF Adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CAF Recuperada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0	<LD*	-
2	10	9,3±0,036	93
3	20	18,54±1,16	92,7

*<LD - abaixo do limite de detecção;

3.4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos, com a otimização da síntese sol-gel, por meio dos planejamentos aplicados, demonstraram a boa adequação das técnicas em desenvolver sínteses, de maneira racional e com economia de reagentes e tempo de bancada. As ferramentas, ainda, demonstraram resultados eficientes ao indicar níveis de impressão do MIP, resultando dados bastante superiores (até 13 vezes) aos relatados na literatura em abordagens similares. Por meio das condições otimizadas e estabelecidas: NH_4OH como catalisador e a proporção de MF:ALC de 1:4 mmol, foi possível obter alta seletividade dos MIPs, frente às espécies análogas e, também, em aplicação com amostras.

Ambos os materiais impressos apresentaram resultados, a partir da descrição dos parâmetros adsorptivos, cinéticos, equilíbrio e termodinâmica similar, sendo: cinética heterogênea de pseudo-segunda e equilíbrio adsorptivo híbrido de Langmuir-Freundlich para dois sítios. No equilíbrio de adsorção, os materiais apresentaram boas taxas de Q, sendo: $1,3 \text{ mg g}^{-1}$ para o HMIP-SI e de $2,2 \text{ mg g}^{-1}$ para o HMIP-SG, por meio de um processo adsorptivo espontâneo governado por ligações de hidrogênio.

Comparando as estratégias empregadas, com relação a velocidade de extração, o HMIP-SI apresentou cinética de adsorção mais rápida (1 hora), se comparado ao HMIP-SG (2 horas). Todavia, o reconhecimento específico e seletivo dos polímeros sintetizados, em superfície, foi inferior à síntese do HMIP-SG. Assim, a aplicação do HMIP-SG, no procedimento MISPE, demonstrou a alta eficiência da extração seletiva ($\cong 93 \%$) CAF, frente às moléculas análogas e em recuperações da CAF, em amostras de água superficial ($> 92 \%$). Assim, a fase sólida desenvolvida se demonstra como um material de alta seletividade, reutilizável e específica para ser aplicada na extração da CAF, em matrizes complexas, apresentando-se como uma excelente alternativa às fases sólidas convencionais.

**Capitulo 4 - Síntese e caracterização de
polímeros molecularmente impressos radicalares
híbridos para determinação de cafeína**

4 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS RADICARES HÍBRIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA

4.1 INTRODUÇÃO

Basicamente, a seletividade dos MIPs depende dos tipos e quantidade das interações que ocorrem entre a MM e os MF^{11,65,109}. Todavia, parâmetros adicionais relacionados à composição química da base polimérica do MIP podem agregar propriedades adsorptivas superiores aos MIPs ao se considerar os métodos de produção. Quando se observa o rendimento reacional dos MIPs, o processo radicalar apresenta-se superior com distribuição de partículas maiores e mais uniformes. Além disso, os MIPs orgânicos radiculares possuem maior capacidade adsorptiva e porosidade, gerada pelo solvente porogênico adicionado à síntese¹²⁷.

No entanto, quando se trabalha com matrizes polares, esses materiais podem apresentar certa incompatibilidade química se utilizarmos os MIPs, com composição totalmente orgânica, fazendo-se necessárias etapas de redissolução prévia da amostra em solventes orgânicos para a extração do analito. Outro inconveniente dos polímeros orgânicos é que, muitas vezes, podem sofrer de encolhimento ou inchaço sob o efeito da temperatura e/ou solventes. Esses efeitos podem alterar, consideravelmente, a morfologia da rede polimérica e das posições relativas aos grupos funcionais que são essenciais pelo reconhecimento do analito alvo. Fato esse pode afetar a seletividade da extração em matrizes complexas¹²⁸.

Atualmente, vem crescendo na literatura a abordagem híbrida da síntese dos MIPs que agregam as duas estratégias, para a obtenção de materiais com características orgânicas e inorgânicas. Esses materiais apresentam alta compatibilidade com a água proporcionada pela inserção de esqueletos de sílica, na matriz orgânica, que proporcionam alta permeabilidade da água, resistência mecânica e compatibilidade com solventes polares e apolares^{70,72,128,129}.

Muitos estudos têm demonstrado algumas vantagens dos polímeros híbridos, para extrair diversos analitos em matrizes complexas. Nesse contexto, este presente capítulo teve como objetivo estudar três diferentes rotas de síntese, a fim de se obter um HMIP orgânico-inorgânico para a CAF, tendo em vista sua aplicação em amostras de água superficial.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Reagentes e Equipamentos

Além dos reagentes e equipamentos citados no item 3.2.1 e 3.2.2. Ácido metacrílico (MAA), etilenoglicol dimetacrilato (EGDMA), 2,2-azobis (2-metilpropionitrilo) (AIBN), adquiridos da Sigma Aldrich em grau P.A, clorofórmio e o ácido acético foram adquiridos da Tedia em grau HPLC. A, Agilent. 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.

4.2.3 Preparo do HMIP pelo Processo Radicalar

O procedimento de síntese em *bulk* foi conduzido de acordo com o trabalho de Yan e colaboradores¹³⁰, com algumas adaptações. Inicialmente, misturou-se num frasco de vidro de borossilicato de 250 mL, 6,4 mmol de APTES com 8,1 mmol de MAA. Em seguida, a mistura foi aquecida a 60 °C, durante 24 horas, sob agitação, em banho Dubnoff, para a formação do monômero funcional híbrido APTES-MAA. Na sequência, 1 mmol de CAF foi solubilizada em 10 mL de clorofórmio e a essa solução foi adicionado 4 mmol do monômero funcional híbrido (APTES-MAA) e deixada, em banho ultrassônico, por 10 minutos. Na sequência, a solução foi colocada no escuro, a 4 °C, por 2 horas. Depois, foram adicionados os agentes de ligação cruzada, sendo 4,48 mmol de TEOS e 25 mmol de EGDMA, além de 0,3 mmol do iniciador radicalar, AIBN. Também, foi purgado N₂ na solução, por 5 minutos e, em seguida, o frasco foi selado e a mistura levada a um banho termostatizado, a 60 °C, por 24 horas. Após esse procedimento, os polímeros obtidos, em blocos, foram moídos e separados por peneira granulométrica de 56 – 125 µm. Os materiais foram submetidos a um processo exaustivo de lavagem para remoção da CAF, utilizando solução de metanol/ácido acético (9:1), sob agitação, em temperatura, em torno de 40 °C. Finalmente, o produto foi lavado com metanol. As últimas soluções remanescentes foram analisadas por cromatografia líquida, para se certificar da remoção total da CAF. Tais polímeros, após a lavagem, foram denominados de HMIP-B.

Para a síntese de precipitação, utilizou-se das mesmas etapas acima mencionadas e referentes à síntese em bulk. Entretanto, foi adicionado 66 mL de água deionizada à mistura reacional e depois da mistura dos AIBN foi purgado N₂,

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

diretamente, na solução, por 5 minutos. Essa mistura foi adicionada a um reator de 500 mL e deixada a reagir a 60 °C, durante 24 horas e com agitação de 1000 rpm. Em seguida, os polímeros foram filtrados e secos, em estufa, por 2 horas, a 90°C, e, posteriormente, realizou-se a extração da CAF. O referido polímero, foi denominado de HMIP-P.

Para o método em suspensão, foram realizadas todas as etapas da síntese, por precipitação, mudando apenas com relação ao preparo de uma solução aquosa de 0,1% do tensoativo PVA. Após a finalização da síntese, os polímeros foram filtrados e deixados, por 2 horas, com 200 mL de H₂O, sob agitação, a 80°C, para retirar o tensoativo. Em seguida, os polímeros foram filtrados e secos, em estufa, por 2 horas, a 90 °C e, posteriormente, armazenados. O polímero resultante foi denominado de HMIP-S. Salienta-se, ainda, que os polímeros controles (HNIPs) foram sintetizados, simultaneamente, sem presença da MM, conforme procedimentos descritos, anteriormente, sendo obtidos HNIP-B, HNIP-P e HNIP-S.

4.2.4 Caracterização Química e Estrutural dos Polímeros

A caracterização química e estrutural dos HMIPs/HNIPs foram as mesmas citadas no capítulo 3.

4.2.5 Estudo de Adsorção

Os estudos de adsorção foram similares aos citados no capítulo 3, salvo algumas alterações. Foi pesado 40 mg de HMIP, em tubos Falcon de 15 mL, e adicionado 10 mL de solução CAF 10 mg L⁻¹. Tais tubos foram mantidos sob agitação constante, a temperatura ambiente, por 10 horas. Os ensaios foram realizados em triplicata pela retirada em tempos pré-determinados de (5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, e 600 min).

Objetivando avaliar a capacidade adsortiva dos HMIPs e HNIPs foram realizados estudos de adsorção de soluções de CAF em diferentes concentrações. Foram pesados 40 mg dos polímeros sintetizados, em tubos Falcon de 15mL, e adicionados 10 mL de solução de CAF nas concentrações 1 a 80 mg L⁻¹. Os frascos foram fechados e homogeneizados, por 240 min, a temperatura ambiente.

Para o estudo termodinâmico de adsorção, utilizou-se o mesmo método relatado no item 3.2.9, porém o tempo de agitação foi de 4h.

4.2.6 Estudo de Seletividade

No entanto, para a determinação dos parâmetros de seletividade, utilizou-se o procedimento descrito no item 3.2.10, no entanto, o tempo de agitação foi de 4h.

4.2.7 Estudo dos parâmetros da MISPE para extração da CAF

Para este estudo utilizou-se o procedimento descrito no item 3.2.12 com algumas adaptações. Os cartuchos foram construídos com 300 mg, condicionados com 2 mL de metanol, seguidos de 2 mL de água ultrapura. As amostras foram percoladas e a lavagem foi realizada com 1,5 mL de água ultrapura, utilizando-se uma bomba de vácuo. Para a escolha do solvente de dessorção (eluição) da CAF, foram avaliados os seguintes solventes/soluções: ACN e MeOH puros, em proporções MeOH/ACN (1:3), MeOH/ACN (1:1) e MeOH/ACN (3:1). Além disso, alíquotas de 10 mL de solução padrão, contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de CAF foram extraídas e dessorvidas com 2 mL de cada solvente. Os extratos, utilizando os solventes, foram analisados por HPLC-UV. Para a avaliação do pH da amostra, o referido pH foi ajustado em 4, 7 e 9, com adição de NH_4OH (conc) ou HCl (conc) às soluções das extrações.

O estudo do volume de *Breakthrough* seguiu o mesmo procedimento descrito no item 3.2.12.4, utilizando 500 mL de amostra na concentração de 1 mg L^{-1} . Para a avaliação da reutilização dos cartuchos e de aplicação, em amostras reais, foi realizado conforme descrito no item 3.2.12.5 e 3.2.13 respectivamente.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Mecanismo de Síntese dos HMIPs

A proposta simplificada do mecanismo de síntese dos polímeros híbridos, pelo processo radicalar, estará representada pela Figura 23. Na primeira etapa, foi realizada a reação de formação de um co-monômero funcional híbrido (APTES-MAA), através de reações de condensação e desidratação entre APTES e MAA. Na segunda etapa, o APTES-MAA reage com a CAF na presença do solvente porogênico (clorofórmio). Nessa etapa, espera-se que os grupos funcionais do APTES-MAA se unam aos grupos funcionais da CAF por meio de ligações de hidrogênio. Na última etapa, foram adicionados os dois ALC (EGDMA e TEOS) na presença do iniciador radicalar (AIBN). As ligações C=C presentes no APTES-MAA são reticuladas com o ALC (EGDMA), via radical livre, gerado termicamente pela homólise do iniciador radicalar AIBN. O APTES-MAA reage com o TEOS, a partir de reações de condensação, formando um esqueleto rígido na matriz polimérica, propiciando estabilidade às cavidades formadas pela MM. O monômero híbrido APTES-MAA é um monômero que se apresenta adequado por combinar as vantagens do APTES e do MAA, para se complexar à CAF.

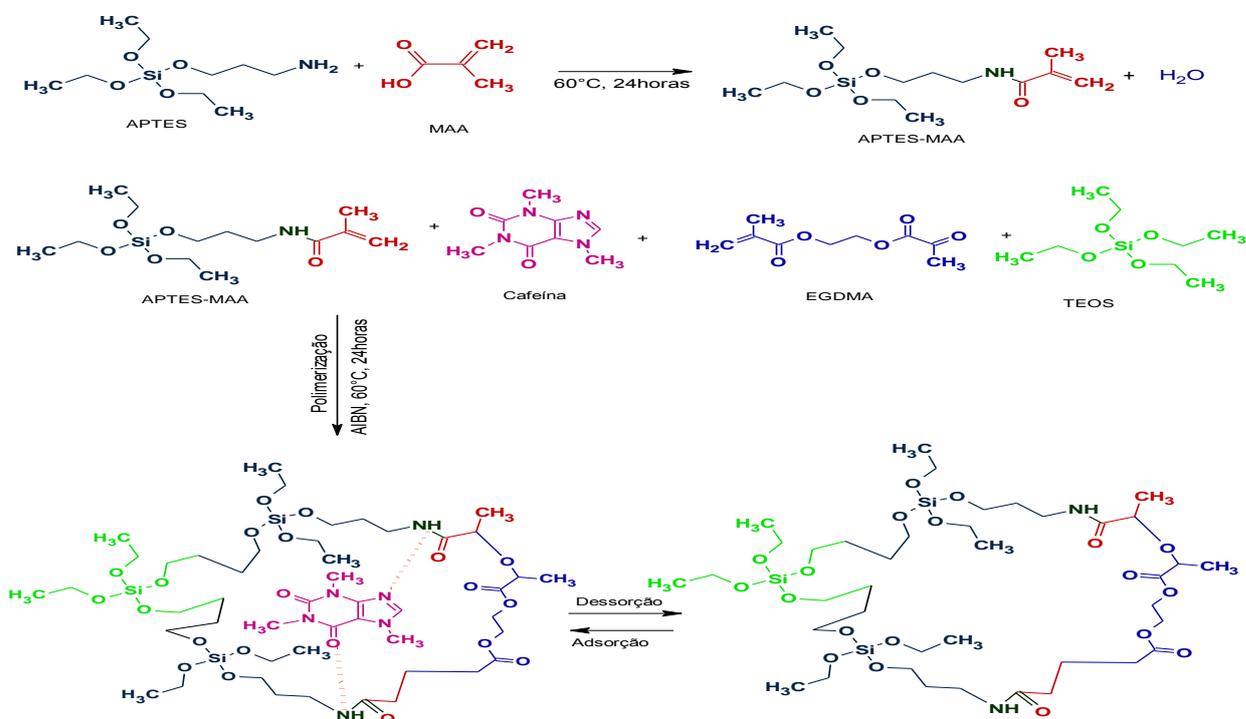


Figura 23. Esquema da síntese do polímero molecularmente impresso pelo processo radicalar híbrido

4.3.2 Caracterização dos HMIPs e HNIPs

4.3.2.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

A espectroscopia FT-IR foi empregada para estudar as estruturas químicas dos polímeros sintetizados. Na Figura 24, observa-se bandas em 476, 774 e 1060 cm^{-1} correspondentes às vibrações de alongamento O–Si–O e Si–OH, além do estiramento assimétrico Si–O–Si, respectivamente. Esses três picos são observados em todos os espectros e estão associados à sílica presente nos polímeros. A banda em 1157 cm^{-1} é atribuída ao alongamento dos grupos O–C presentes no EGDMA. Em 1277 cm^{-1} , pode-se observar o alongamento de grupos carboxila de segmentos de MAA. Já a banda em 1360 cm^{-1} é atribuída à deformação angular fora do plano dos grupos metila. Por outro lado, as bandas em 1452 e 1630 cm^{-1} estão relacionadas às vibrações de deformação do grupo C–H. Observa-se, também, uma banda em 1720 cm^{-1} , correspondente às vibrações de estiramento do grupo C=O. Pode-se constatar bandas em todos os espectros, que atestam a presença de grupos funcionais do APTES-MAA, empregados como monômero híbrido, tal como a banda de 3500 – 3000 cm^{-1} , (estiramento OH do MAA).

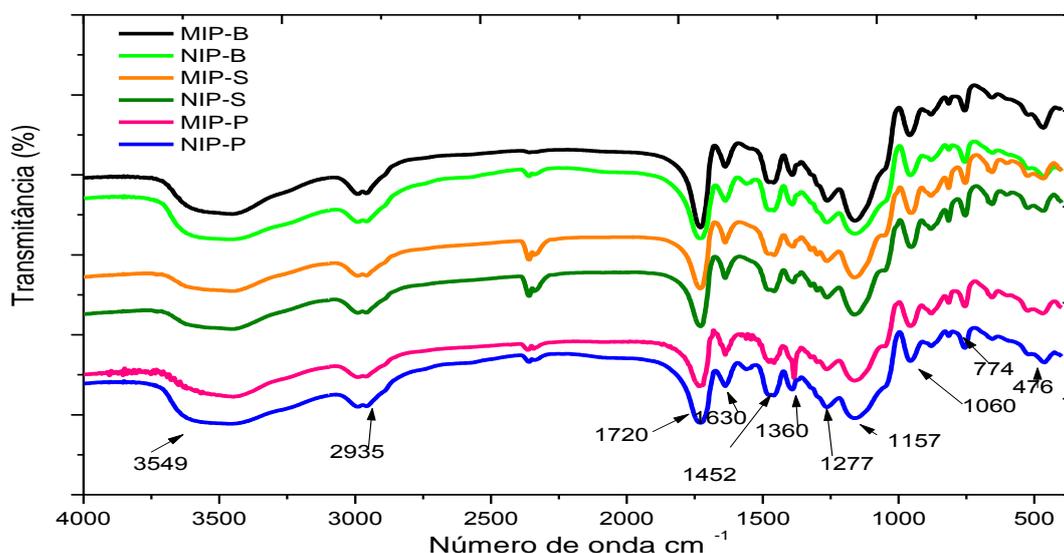


Figura 24. Espectro de absorção no infravermelho para os polímeros HMIPs/HNIPs radiculares híbridos.

4.3.2. 2 Termogravimetria (TGA)

A Figura 25 apresenta o estudo da estabilidade térmica dos HMIPs/HNIPs após a extração da MM. Observa-se uma perda de massa em torno de 80°C, que pode estar

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

relacionada à decomposição de materiais voláteis gerados como produto da reação ou se encontram presos no interior das cavidades dos materiais. Uma perda considerável de massa, ocorre em todos os polímeros, no intervalo da temperatura entre 250°C a 450°C, provavelmente, em razão da degradação de compostos orgânicos presentes na estrutura dos materiais. Por fim, após 700 °C, foram atingidos de 3 a 5 % da massa inicial e essa faixa manteve-se constante até 1000 °C. Esse resíduo corrobora com a presença da matriz inorgânica de SiO₂ e materiais carbonizados. Os resultados sugerem a estabilidade térmica do polímero, em aproximadamente 250 °C, e são compatíveis com as análises termogravimétricas de materiais à base de sílica reportada na literatura

130

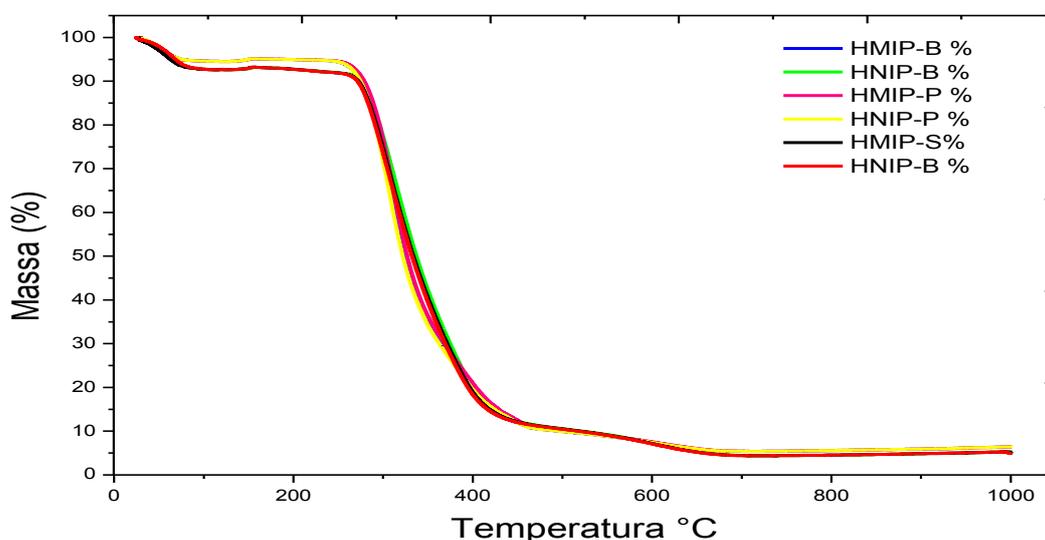


Figura 25. TGA dos polímeros HMIPs/HNIPs radicalar híbridos.

4.3.2.3 Microscopia e porosimetria

As micrografias dos polímeros sintetizados por bulk, bem como a precipitação e a suspensão, estão mostradas nas Figuras 26, 27 e 28 respectivamente. A partir das fotomicrografias, foi possível observar a morfologia, o tamanho e a porosidade das partículas, evidenciando que as sínteses de suspensão e precipitação apresentam, em geral, partículas de forma esférica, com menor grau de agregação quando comparados à síntese em bulk. As partículas esféricas referentes a HMIP-P e HMIP-S, com alta proporção de solvente, e grande reatividade do MF híbrido, acarreta no crescimento da cadeia polimérica, dando origem, como consequência, a maior área superficial. As Figuras 26, 27 e 28 demonstraram que os HMIPs, obtidos por diferentes métodos, apresentam porosidades diferentes, provando que a escolha do método adequado de

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

síntese propiciará diferenças relevantes de porosidade. Pode-se observar, pelo método de precipitação, a presença de partículas colapsadas, resultantes da baixa estabilidade física e da intensa ou vigorosa agitação durante a síntese. Entretanto, na síntese por suspensão, a adição do protetor coloidal (PVA) minimiza esse problema. Pode-se, ainda, visualizar que os polímeros controles apresentaram porosidade menor em comparação aos seus respectivos polímeros molecularmente impressos.

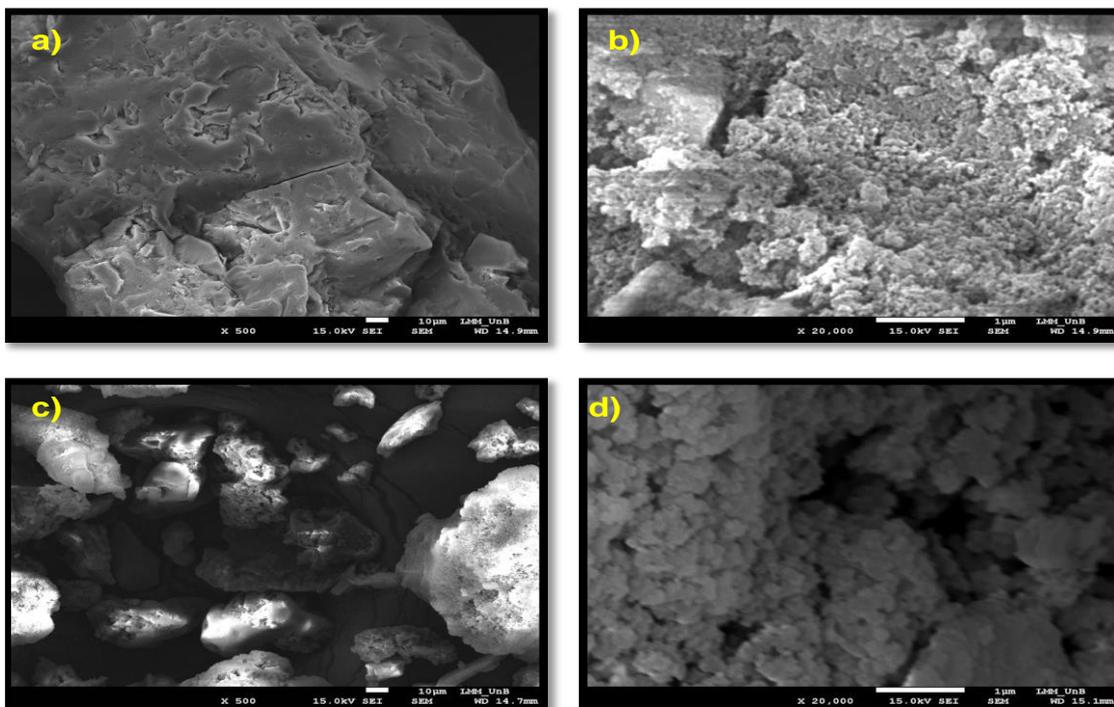


Figura 26. Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos polímeros HMIP-B (a e b), HNIP-B (c e d). As imagens foram ampliadas em 500 e 20.000 vezes.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

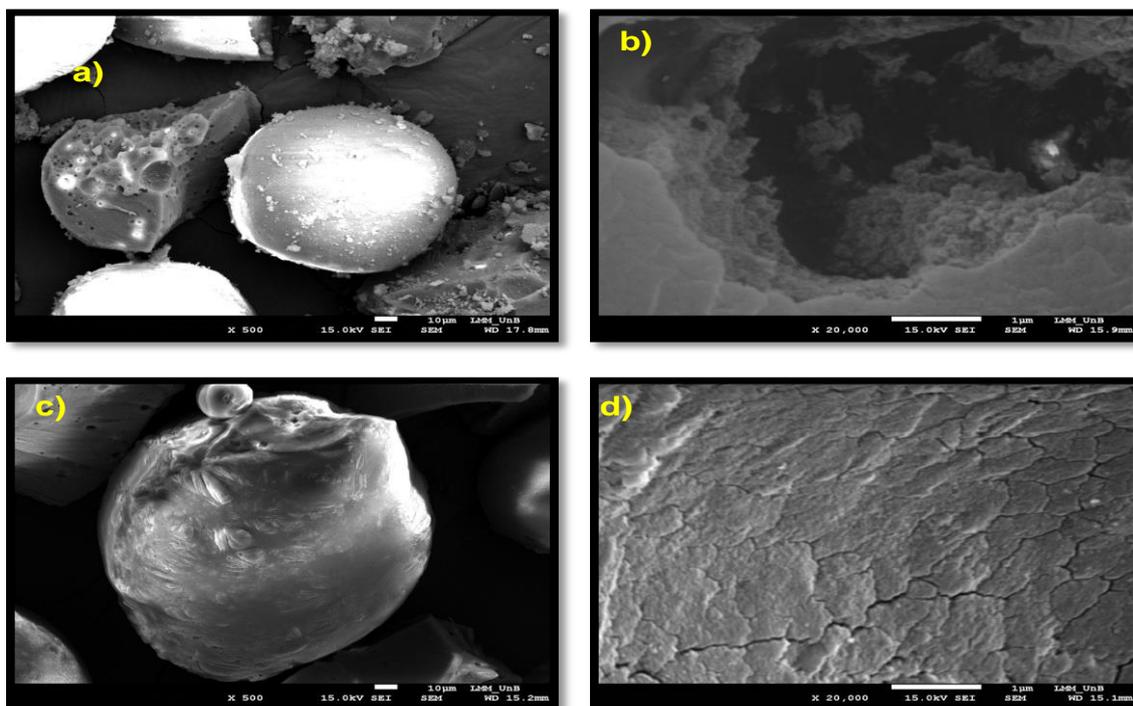


Figura 27. Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos polímeros HMIP-P (a e b), HNIP-P (c e d). As imagens foram ampliadas em 500 e 20.000 vezes.

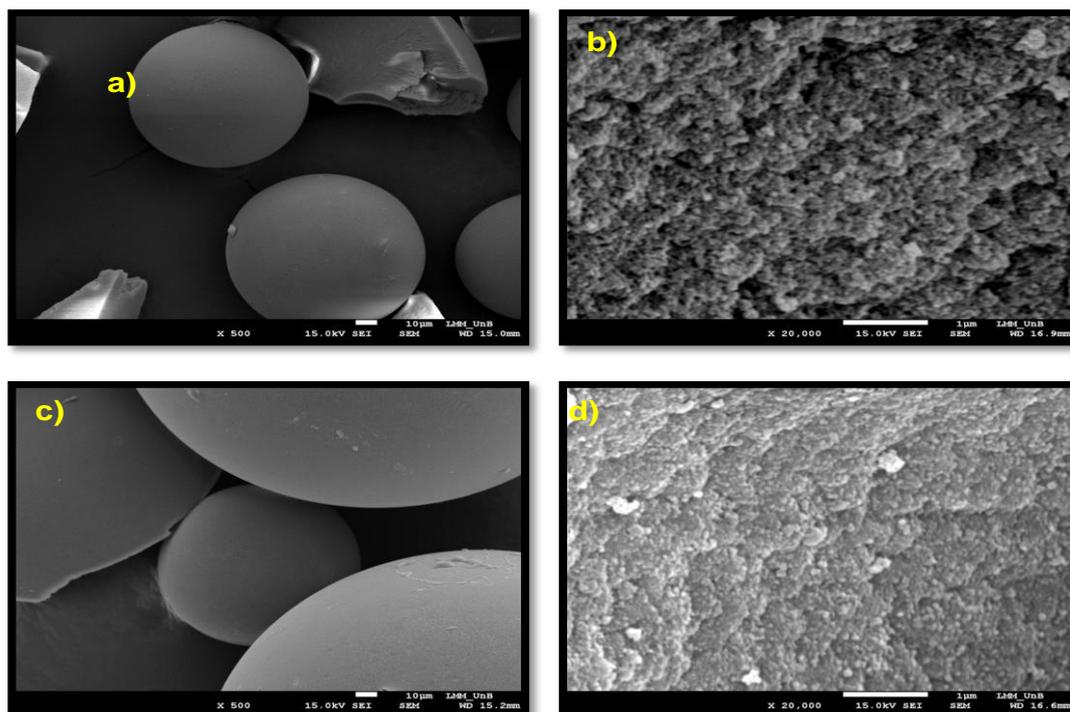


Figura 28. Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos polímeros HMIP-S (a e b), HNIP-S (c e d). As imagens foram ampliadas em 500 e 20.000 vezes.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

Com relação à classificação dos poros desses materiais, todos os polímeros podem ser considerados mesoporosos. Observando a área superficial do HMIP-B, percebe-se que essa foi 1,9 vezes maior que a do HNIP-B (Tabela 18). Esse efeito é comum nos processos em massa, devido à alta agregação das partículas, porém para a HMIP-P, essa diferença foi 3,6 vezes superior. Contudo, para a síntese em suspensão, o aumento foi mais substancial, pois o HMIP-S apresentou uma área de superfície 12 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.

Tabela 18. Porosimetria dos HMIPs/HNIPs radicalar híbridos.

	Área específica BET (m ² g ⁻¹)	Tamanho Médio de Poros (Å)	Volume de Poros (cm ³ g ⁻¹)
HMIP-S	288,32	2,62	0,6
HNIP-S	23,94	2,06	0,011
HMIP-B	273,13	1,69	0,456
HNIP-B	147,13	2,83	0,270
HMIP-P	220,81	2,08	0,243
HNIP-P	61,953	1,69	0,118

4.3.3 Cinética de equilíbrio de Adsorção

Considerando a Figura 29, é possível observar que a capacidade de adsorção dos materiais aumentou, gradativamente, em todos os HMIPs e atingiu seu máximo após 180 minutos. Esse tempo foi superior ao relatado, no capítulo anterior, quanto aos materiais sintetizados, e pode estar associado à rápida ocupação das cavidades na superfície pela CAF e que, também, pode ter aumentado a dificuldade de ligação da mesma aos sítios mais internos do MIP.

Em comparação ao tempo de equilíbrio de outros trabalhos da literatura, Yan e colaboradores, em 2014¹³⁰, obtiveram um tempo de equilíbrio igual a 8 horas com um HMIP radicalar sintetizado em *bulk*, para a determinação de aciclovir em urina, demonstrando assim que a velocidade adsortiva relatada nos materiais aqui sintetizados apresentou-se adequada em comparação a esse HMIP. Entre as sínteses não foram observadas contribuições efetivas que impactaram no tempo de adsorção da CAF pelos três HMIPs sintetizados. Dessa forma, fixou-se em 180 min o tempo necessário para a adsorção para os próximos estudos.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

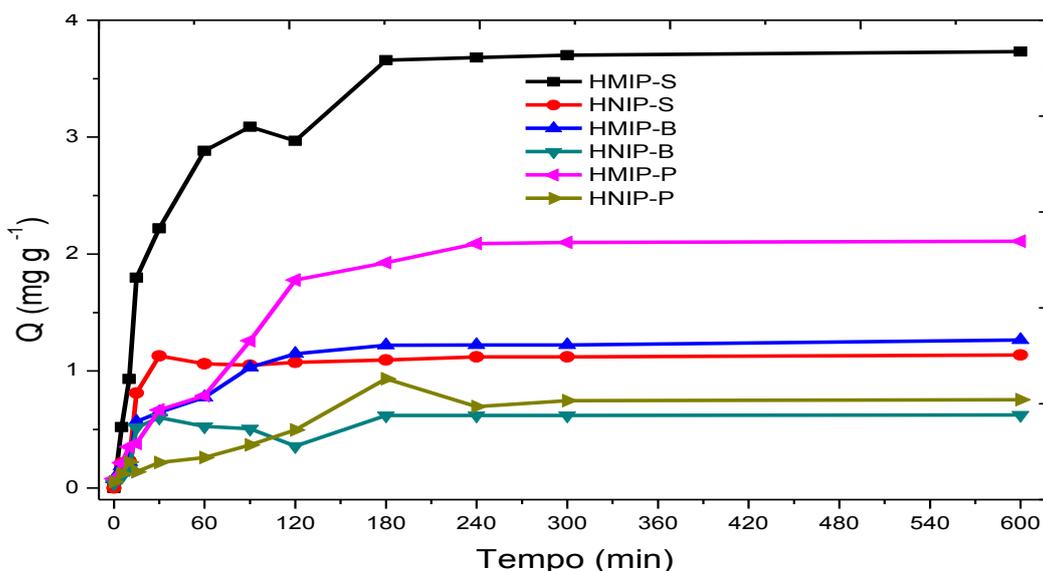


Figura 29. Efeito do tempo na capacidade de adsorção de CAF pelos MIPs/NIPs.

Os parâmetros obtidos pelo ajuste dos modelos cinéticos estão apresentados pela Tabela 19. Observou-se que a adsorção da CAF, com todos os HMIPs em estudo, ocorreu via mecanismo de pseudo-segunda ordem, apresentando coeficientes de determinação adequados, sendo o R^2 igual a 0,99 para o HMIP-S e 0,97 para o HMIP-B e HMIP-P. O ajuste adequado dos dados empíricos, através do modelo de pseudo-segunda ordem, foi confirmado pela aproximação do Q_e e ao Q_e (Tabela 18) para os HMIPs. A cinética de ligação dos HMIPs sintetizados, no presente estudo, apresentou uma taxa constante de $0,01 \text{ min}^{-1}$ para o HMIP-S, $0,029 \text{ min}^{-1}$ e para o HMIP-B e de $0,006 \text{ min}^{-1}$ para o HMIP-P, indicando que a interação imediata da CAF com a matriz polimérica é um processo muito rápido. Com base nos parâmetros cinéticos, foi possível inferir que o HMIP-S mostrou parâmetros mais adequados de adsorção, ($Q_e=3,92 \text{ mg g}^{-1}$) e com taxa cinética apropriada, em comparação aos outros MIPs. Assim, para descrever mais propriedades dos materiais prosseguiu-se com os estudos de equilíbrio adsorptivo.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radicalares híbrido para a determinação de cafeína

Tabela 19. Parâmetros cinéticos para os MIPs/NIPs radicalar híbridos.

Polímero	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem		
	K_1 (min^{-1})	Q_e (mg g^{-1})	R^2	K_2 (min^{-1})	Q_e (mg g^{-1})	R^2
HMIP-S	0,0088	1,5	0,74	0,01	3,92	0,99
HNIP-S	0,0099	0,27	0,64	0,05	1,21	0,97
HMIP-B	0,0065	0,57	0,65	0,029	1,33	0,99
HNIP-B	0,008	0,16	0,56	0,08	0,644	0,97
HMIP-P	0,01	1,44	0,80	0,006	2,43	0,97
HNIP-P	0,003	0,77	0,68	0,02	0,844	0,93

A Figura 30 apresenta os efeitos do estudo de equilíbrio de adsorção, em que se observa a capacidade de adsorção dos HMIPs, a qual aumenta, progressivamente, com o aumento da concentração de CAF, em solução, até a concentração de 30 – 40 mg L^{-1} permanecendo constante. Os resultados experimentais demonstraram maior Q para o método de suspensão que apresentou um Q_e de 4,75 mg g^{-1} , valor 1,5 vezes superior ao polímero sintetizado por precipitação e 2,4 vezes superior ao sintetizado pelo método de *bulk*. Ressalta-se que todos os polímeros apresentaram capacidades adsorptivas superiores aos respectivos polímeros controles e bastante superiores aos MIPs inorgânicos, relatados pelo capítulo anterior (HMIP-SG e HMIP-SI).

Os resultados dos FIs confirmam as maiores adsorções dos polímeros impressos, em relação aos não impressos, ao verificar um FI para o HMIP-S de 5, um FI para o HMIP-P de 4,8 e um FI para o HMIP-B de 3. A baixa capacidade de adsorção e o menor fator de impressão do HMIP-B, quando comparado aos outros polímeros, deve-se, provavelmente, à etapa de moagem que danifica os sítios adsorptivos e, também, a irregularidade das partículas obtidas pela ocorrência da trituração do bloco. Essa etapa pode proporcionar a destruição de alguns sítios seletivos pela fricção, diminuindo a capacidade de retenção do analito.

Alguns estudos que realizaram comparações evidenciaram essa redução de Q em polímeros sintetizados pelo método em *bulk*^{65,74}. Vários autores afirmam, neste trabalho, que o reconhecimento molecular dos polímeros impressos estão, intimamente, relacionadas à sua morfologia, ou, especificamente, à forma e ao tamanho da partícula^{65,74,107}. A síntese em suspensão apresenta características mais adequadas à essas observações, visto que a mesma possui formas mais delineadas e tamanhos homogêneos e regulares das partículas que podem ter contribuído para uma adsorção mais efetiva da CAF.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

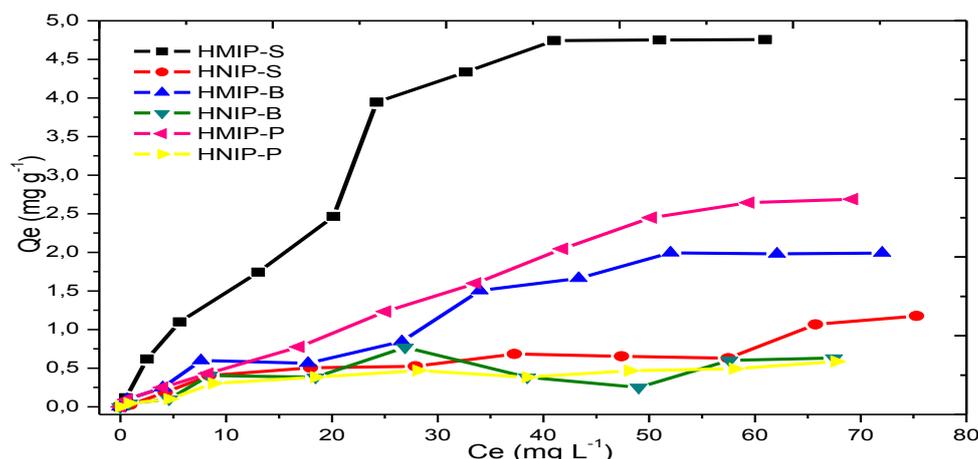


Figura 30. Dados experimentais obtidos para construção das Isoterma de adsorção do dos MIPs/NIPs radiculares híbridos.

Para elucidar o equilíbrio adsorptivo, ajustou-se os isotérmicos e os parâmetros obtidos, que estarão listados pela Tabela 20, já as curvas, com os plotes, estarão ilustradas pela Figura 31.

Tabela 20. Parâmetros das isotermas de adsorção para os HMIPs/HNIPs.

Polímero	Não Linear de Langmuir			Não Linear de Freundlich							
	$Q_e = \frac{K_L b C_e}{1 + K_L C_e}$			$Q_e = K_F C_e^{1/n}$							
	K_L	B	R^2	K_F	N	R^2					
HMIP-S	0,03	8,03	0,96	0,488	1,7	0,98					
HNIP-S	0,045	1,088	0,86	0,077	1,67	0,89					
HMIP-B	0,011	4,75	0,95	0,1	1,41	0,95					
HNIP-B	0,13	0,61	0,60	0,14	2,96	0,54					
HMIP-P	0,006	9,47	0,90	0,09	1,2	0,98					
HNIP-P	0,076	0,62	0,93	0,096	2,39	0,91					
Polímero	Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção				Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção						
	$Q_e = \frac{b_1 (K_1 C_e)^{n_1}}{1 + (K_1 C_e)^{n_1}}$				$Q_e = \frac{b_1 (K_1 C_e)^{n_1}}{1 + (K_1 C_e)^{n_1}} + \frac{b_2 (K_2 C_e)^{n_2}}{1 + (K_2 C_e)^{n_2}}$						
	K_1	b_1	n_1	R^2	K_1	b_1	n_1	K_2	b_2	n_2	R^2
HMIP-S	0,49	6,088	1,43	0,97	0,05	1,7	17,8	0,08	3,3	1,1	0,99
HNIP-S	9.10^{-7}	319	0,59	0,87	0,001	7983	4,06	0,17	0,56	2,15	0,93
HMIP-B	0,012	4,47	1,03	0,94	0,31	1,43	6,35	0,24	0,55	35,2	0,99
HNIP-B	0,16	0,5	4,42	0,60	0,16	0,37	7	8.10^{-8}	6,19	0,3	0,31
HMIP-P	0,18	4,79	1,34	0,98	0,04	1,7	1,078	0,03	1,4	4,3	0,99
HNIP-P	0,09	0,57	1,2	0,93	0,15	0,42	3,05	0,013	0,48	6,8	0,95

Nota: Q_e é a quantidade de sorvido por grama de sorvente; C_{eq} é a concentração de equilíbrio da solução ($mg L^{-1}$); K_L é a constante de sorção de Langmuir ($L mg^{-1}$); K_F é a constante de Freundlich relacionada à capacidade de sorção ($mg g^{-1}$) ($L g^{-1}$); n é a constante relacionada à intensidade de sorção ou grau de sorção; n_1 e n_2 são os fatores de heterogeneidade; b é a constante relacionada à capacidade máxima de sorção ($mg g^{-1}$) e K , da equação de Langmuir-Freundlich, representa as afinidades sorbato-sorventes.

De maneira similar aos MIPs, relatados no capítulo anterior, os modelos híbridos de Langmuir-Freundlich, com um e dois sítios de adsorção (Figura 31), descreveram, mais adequadamente, o mecanismo adsorptivo predominante nos HMIPs. Foi possível modelar regiões diferentes de forças de adsorção, relacionadas às isotermas em estudo. Esses modelos explicam a adsorção em materiais que apresentam sítios de ligações homogêneas e heterogêneas.

Todavia, observando os dados dos modelos apresentados pela Tabela 20, os valores dos coeficientes de determinação do modelo Langmuir-Freundlich, para um sítio de adsorção, foram inferiores aos obtidos pelo modelo Langmuir-Freundlich aos dois sítios de adsorção. No modelo de dois sítios foram observados valores de R^2 , próximos a 0,99 para todos os HMIPs em estudo. A eficácia desse modelo, para os polímeros, também, pode ser corroborada pela semelhança do Q_e obtida nos dados empíricos e pelas capacidades adsorptivas máximas e teóricas previstas pelo modelo ($b_1 + b_2$), sendo: HMIP-S Q_e 5 mg g⁻¹. Valor esse muito próximo ao valor calculado, experimentalmente, (4,75 mg g⁻¹). Para o HMIP-B, o valor Q_e foi de 1,98 mg g⁻¹, valor idêntico ao valor calculado, de forma experimental e para o HMIP-P, o Q_e , também, se apresentou próximo ao determinado experimentalmente (Q_e 3,1 mg g⁻¹ e Q_e 2,9 mg g⁻¹).

Os ajustes dos dados obtidos por meio do modelo híbrido de Langmuir-Freundlich de dois sítios, concorda com o ajuste obtido pelos ensaios cinéticos que indicaram uma cinética de pseudo-segunda ordem. Assim, os HMIPs possuem sítios de sorção com diferentes forças de afinidades químicas. Esses sítios podem ter maiores energias nos locais provenientes dos grupos carboxila, derivados do MAA ou menores atribuídos ao Si-OH da APTES⁹¹. Diante do exposto, é possível concluir que o processo de adsorção da CAF, nos HMIPs, possivelmente, acontece numa superfície energeticamente homogênea e heterogênea, obedecendo a um preenchimento em multicamadas¹⁰⁷.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radicalares híbrido para a determinação de cafeína

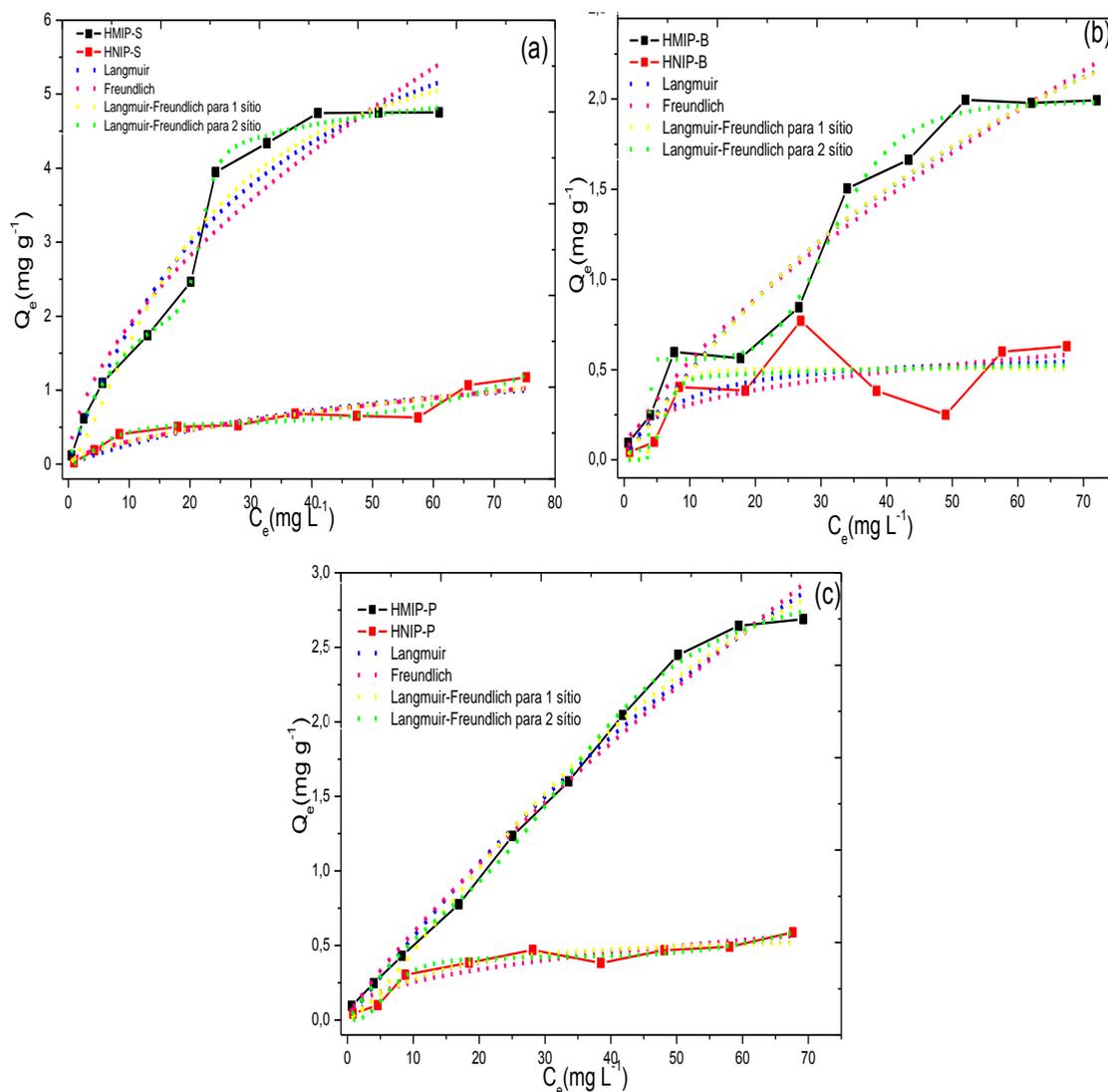


Figura 31. Isothermas de adsorção dos HMIP/HNIP (a) HMIP-S e HNIP-S, (b) HMIP-B e HNIP-B e (c) HMIP-P e HNIP-P com os ajustes para os modelos descritos na Tabela 19.

4.3.4 Parâmetros Termodinâmicos

Os parâmetros termodinâmicos (Tabela 21) demonstram que os valores calculados e obtidos de ΔH_{ads} foram negativos, indicando que o processo de adsorção tem natureza exotérmica e é favorecido em temperaturas mais baixas. A magnitude desses valores sugere as interações predominantes entre a CAF e os HMIPs por meio de ligações de hidrogênio. O ΔG_{ads} , também, foi negativo comprovando que é um processo adsorptivo energeticamente favorável e espontâneo. Pode-se observar que os valores de ΔG_{ads} tiveram um pequeno aumento com o aumento da temperatura, indicando o favorecimento do processo em temperaturas baixas para todos os polímeros

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

estudados. Além disso, os valores de ΔS , também, foram negativos, sugerindo um aumento na ordem e na interface sólido-solução.

Tabela 21. Parâmetros Termodinâmicos para os MIPs/NIPs radicalar híbridos.

Polímero	ΔH_{ads} (kJ mol ⁻¹)	ΔS_{ads} (J mol ⁻¹)	ΔG_{ads} (kJ mol ⁻¹) Temperatura (K)				
			283,15	293,15	303,15	313,15	323,15
HMIP-B	-17,57	-81,15	-10,85	-10,61	-10,38	-10,14	-9,9
HNIP-B	-9,79	-1,98	-9,23	-9,21	-9,19	-9,17	-9,15
HMIP-P	-11,65	-2,86	-10,84	-10,81	-10,78	-10,75	-10,72
HNIP-P	-28,55	-69,13	-8,97	-8,28	-7,59	-6,9	-6,2
HMIP-S	-17,78	-19,8	-12,17	-11,97	-11,77	-11,57	-11,38
HNIP-S	-22,62	-48,37	-8,93	-8,44	-7,95	-7,47	-6,99

4.3.5 Estudos de Seletividade

A seletividade dos HMIPs, para a CAF, foi avaliada num teste com TEF e TEB, usando uma solução com os três compostos na mesma concentração (10 mg L⁻¹), conforme o que fora descrito no item 3.2.10. O coeficiente de distribuição (K_d) obtido indica como ocorre a migração dos analitos da fase líquida para a superfície sólida dos HMIPs. Pelos resultados obtidos (Tabela 22), observou-se maiores concentrações adsorvidas da CAF pelos HMIPs se comparados aos seus análogos. Já para os HNIPs, não houve o mesmo efeito, em que resultaram em K_d para a CAF bem semelhantes aos obtidos para os análogos estruturais.

A comparação dos valores dos coeficientes de seletividade permite confirmar a alta eficiência dos HMIPs, para extrair a CAF na presença de interferentes. Os valores de k , encontrados para o HMIP-S, foram de 8,1 para TEF e 14,8 para a TEB, superiores aos encontrados para os HMIPs e sintetizados por precipitação e em bulk. Com relação aos HNIPs, os valores de coeficiente de seletividade foram inferiores aos HMIPs, como havia sido esperado. Já os valores do coeficiente de seletividade relativo (k' , que revela a magnitude do efeito de impressão dos HMIPs, apresentou k' de 7,3 para HMIP-S, 5,67 para HMIP-P e 3,9 para HMIP-B, demonstrando que todos os polímeros apresentaram-se seletivos para a CAF. Porém o HMIP-S apresenta uma seletividade superior aos outros dois.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

Tabela 22. Parâmetros relacionados ao efeito de impressão (k_d , k , k') do HMIPs/HNIPs radicalar híbridos.

Adsorvente	K_d (mL g ⁻¹)			K		K'
	CAF	TEF	TEB	TEF	TEB	
HMIP-S	237,2±2,7	29,3 ±2,1	16,2±0,67	8,1	14,8	7,3
HNIP-S	32,50,6	28,4±0,12	27,36±3,9	1,2	1,2	
HMIP-B	119,9±0,09	25,1±1,18	14,2±0,9	4,7	8,1	3,9
HNIP-B	30,7±p,48	34,5±1,8	25,6±1,7	0,9	1,2	
HMIP-P	136,9±0,7	32,8±0,23	16,7±0,47	4,1	8,04	5,67
HNIP-P	27,3±0,47	33,7±0,45	18±7,7	0,8	1,5	

Pode-se observar que o HMIP sintetizado pelo método de suspensão apresentou maior capacidade de adsorção e maior fator de impressão e seletividade que os HMIPs, sintetizados por meio do processo em *bulk* e precipitação. Assim, o HMIP-S foi, então, estabelecido para ser usado como fase sólida para MISPE da CAF em águas superficiais.

4.3.6 Otimização do método MISPE

Ressalta-se que foram estudados os efeitos do pH da amostra e do tipo de solvente de dessorção. O pH da amostra foi avaliado tendo em vista as propriedades químicas da CAF e dos HMIPs. As soluções de CAF estudadas foram equilibradas em pHs: 4, 7 e 9 (Figura 32). Os resultados demonstraram que a capacidade adsortiva do HMIP-S aumentou em pH próximo a 7,0. Esse efeito pode estar relacionado à protonação dos grupos amida, advindos do APTES-MAA ($pK_a = 10,53$) e, também, da presença dos grupos silanol ($pK_a = 4,8$) da matriz de sílica, que facilita a ocorrência de ligações de hidrogênio com a CAF. A CAF é uma base fraca que apresenta valor de pK_a , próximo a 8,5, e devido a isso pode interagir com os grupos silanóis residuais da superfície da sílica. Dessa forma, a eficiência de extração apresentou-se dependente do pH da amostra e para os demais experimentos, as extrações foram conduzidas em pH igual a 7,0.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

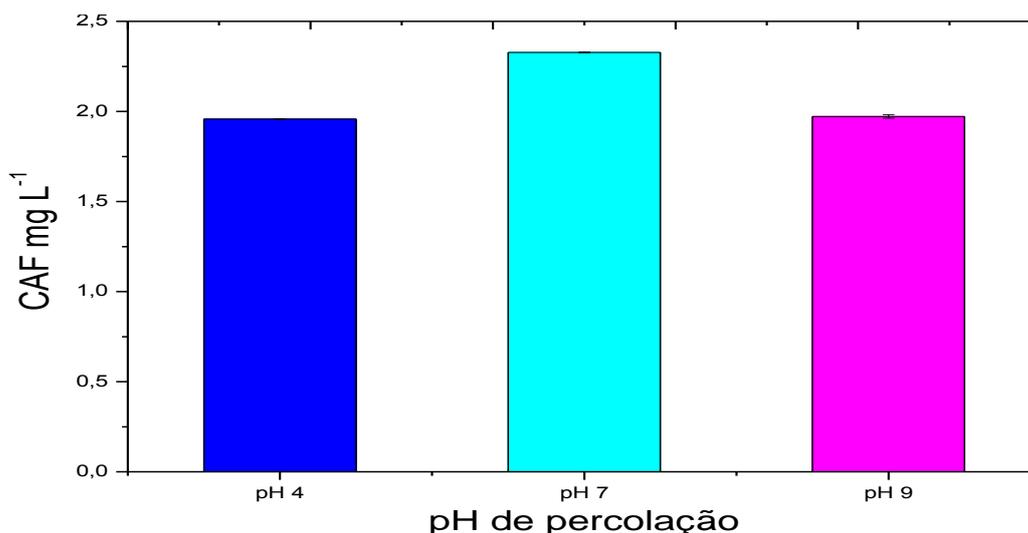


Figura 32. Dependência entre o a adsorção em diferentes pH de percolação da amostra.

O tipo de solvente de dessorção da CAF foi avaliado variando-se o ACN e o MeOH puros e nas proporções MeOH/ACN (1:3), MeOH/ACN (1:1) e MeOH/ACN (3:1). A Figura 33 compara a eficiência de dessorção dos solventes testados, portanto, concluiu-se que o metanol foi o solvente com melhor desempenho para a dessorção da CAF, devido a maior concentração recuperada da CAF. O melhor desempenho extrativo do metanol pode estar relacionado à capacidade em realizar ligações de hidrogênio com a CAF, por ser um solvente polar prótico. A acetonitrila, por sua vez, é um solvente polar aprótico que faz ligações dipolo, mais fracas que a de hidrogênio. Dessa forma, o MeOH pode se ligar mais fortemente à CAF, resultando numa eluição mais efetiva.

Além disso, outros fatores já apontados por Silva (2009)¹³², como o parâmetro de solubilidade de Hildebrandt (δ) e a série eluotrópica de Snyder (ϵ^0), podem explicar os motivos do metanol ser um bom eluente para a CAF. Ambos os solventes possuem valores semelhantes de δ (12,9 para o metanol e 11,7 para a acetonitrila) e de ϵ^0 (0,95 para o metanol e 0,65 para a acetonitrila). Os dois parâmetros estão relacionados com a polaridade do solvente e seu poder de eluição, são maiores que o do metanol. Assim, a capacidade de formar ligações de hidrogênio mais efetivas com a CAF, combinada a alta polaridade do solvente, são parâmetros que explicam a maior eficiência da dessorção do metanol nesse sistema.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

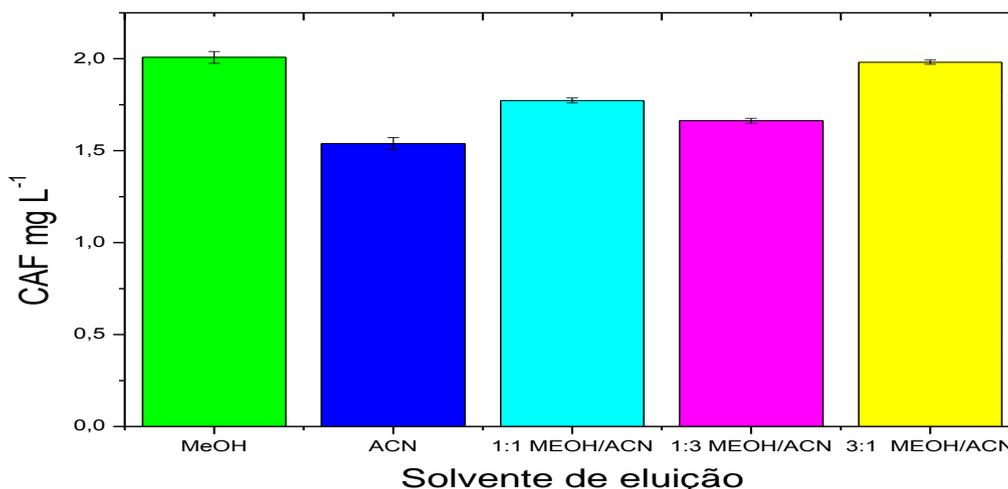


Figura 33. Estudo do solvente de dessorção da CAF no HMIP-S.

Devido à semelhança estrutural entre CAF, TEF e TEB foi realizado um ensaio de seletividade a partir das condições do HMISPE otimizadas. Para isso, foi percolado, como amostra, uma solução padrão equimolar dos três compostos e o eluato foi analisado por HPLC. Para averiguação da eficiência do HMISPE, foi injetada uma amostra bruta, sem passagem pelo extrator. Os resultados podem ser observados nos cromatogramas apresentados pela Figura 36. A partir da amostragem, notou-se alta porcentagem de recuperação para a CAF ($95 \pm 2,5\%$), enquanto que para a TEB foi de $28 \pm 3\%$ e para a TEF, de $33 \pm 4,2\%$. Esses dados atestam a alta afinidade e impressão do HMIP-S para a CAF. O **FI** foi estimado em $6,1 \pm 0,4$, sendo um pouco superior àqueles obtidos nos experimentos de equilíbrio de adsorção. Dessa forma, os resultados apresentados sugerem que o HMIP-S podem ser aplicados, de forma eficiente, para a extração seletiva de CAF.

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

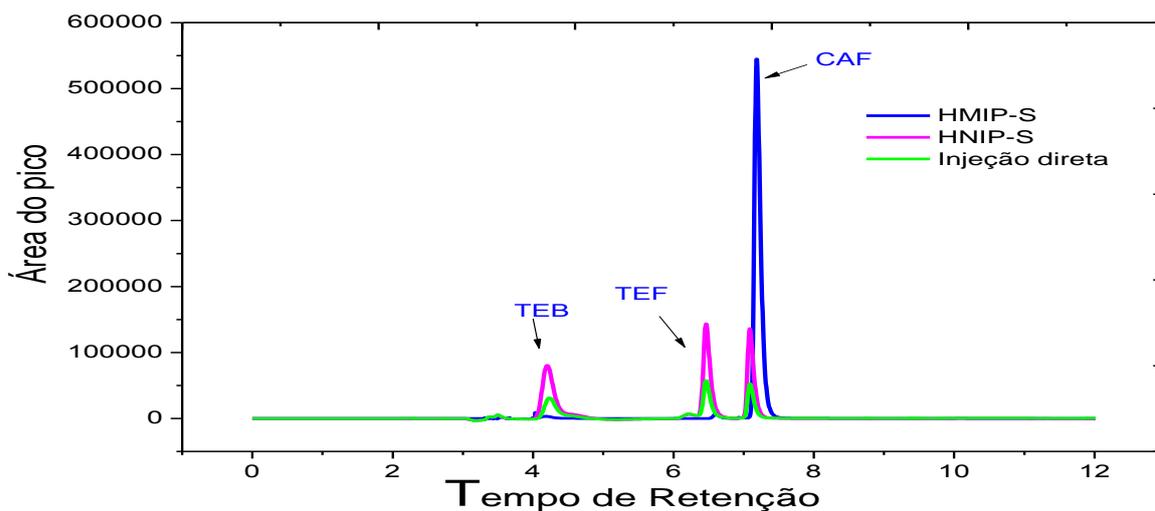


Figura 34. Separação cromatográfica (—) HMIP-S, (—) HNIP-S e (—) Injeção direta com a mistura ternária CAF, TEB e TEF

4.3.7. Volume de breakthrough e capacidade adsortiva do MISPE

A curva de ruptura foi construída de forma empírica e em *off line*. Os dados referentes a esse ensaio estão demonstrados pela Figura 35. Mesmo após a passagem de 500 mL de solução da CAF, não foi possível detectar um sinal mensurável para a CAF e, provavelmente, o volume e concentração de CAF deveriam estar longe de atingir o LOQ do método de $15 \mu\text{g L}^{-1}$, como se pode observar no perfil da curva (Figura 35). Logo, considerando as aplicações ambientais, essa fase sólida apresenta capacidade adsortiva apropriada, conforme as exigências da pré-concentração requeridas por essas análises.

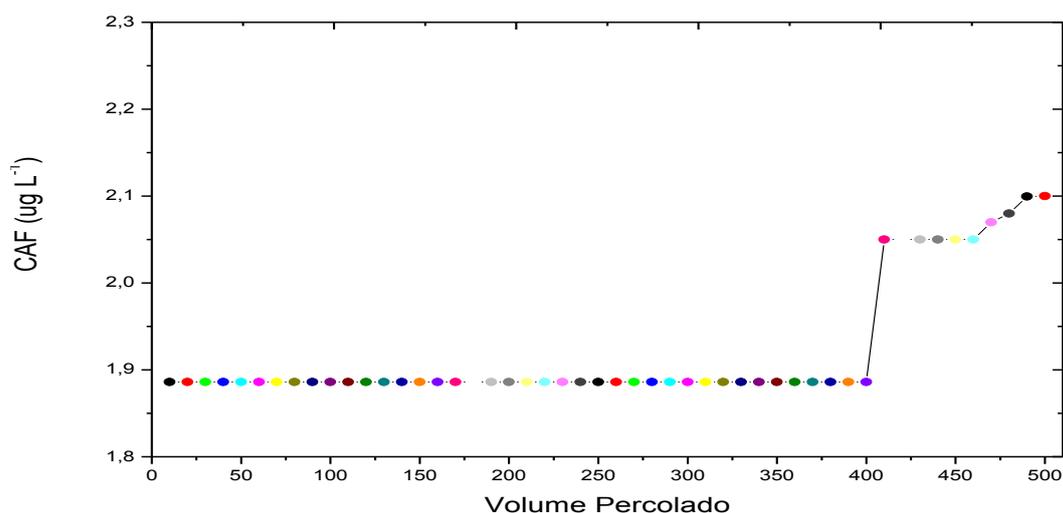


Figura 35. Curva de breakthrough empírica para o HMIP-S como fase sólida.

4.3.8 Estudo de reutilização

Vale registrar que, para investigar o desempenho da regeneração do MISPE, os ciclos de adsorção e dessorção foram repetidos 42 vezes. Podemos observar, através da Figura 38, que a capacidade de sorção/dessorção diminuiu de 97,1 %, no ciclo 33, para 93,9 % no ciclo 35; sendo que no ciclo 36, observou-se um decréscimo significativo para 86,6 % da concentração recuperada. O estudo adsorção-dessorção demonstrou excelente capacidade de reutilização,

com uma eficiência de sorção, praticamente, inalterada por até 33 ciclos de adsorção/dessorção.

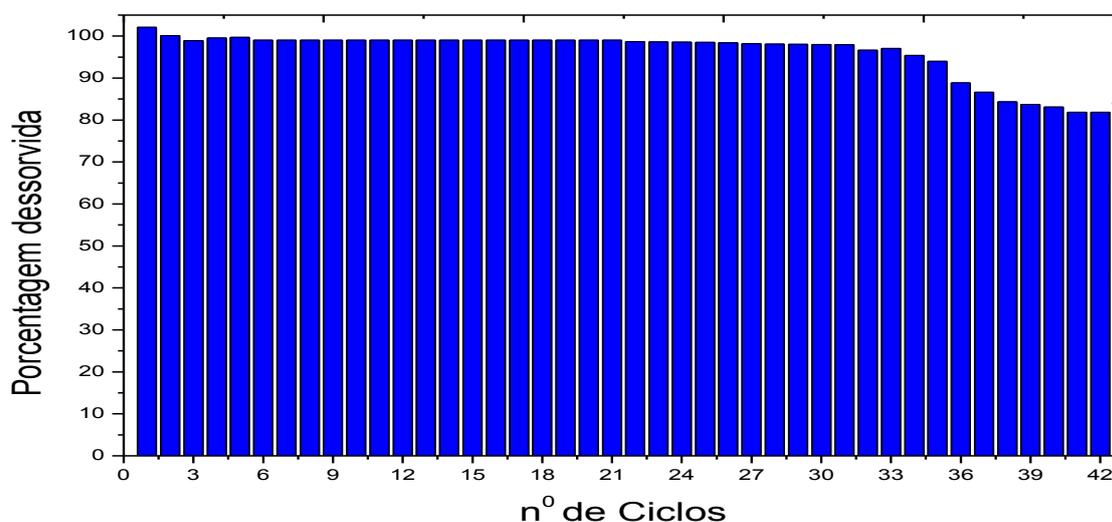


Figura 36. Os ciclos de regutilização do HMIP-S de CAF.

4.3.9 Aplicação em Amostras de Águas Superficiais

As amostras de água superficial foram fortificadas em três níveis de concentração: 0, 10 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CAF. Foi realizado, também, um banco como forma de controle de todas as amostras processadas no método MISPE otimizado. Os resultados de recuperação (Tabela 23) indicaram que o método estabelecido foi adequado para a extração de baixos níveis de concentração de CAF. Pôde-se observar que a concentração de CAF encontrada na água, não fortificada, foi de $0,039 \pm 0,001 \mu\text{g L}^{-1}$. Assim, a concentração quantificada apresentou-se similar à quantificada nos estudos de Sodré e colaboradores, em 2018³, em águas superficiais, no Distrito Federal, os quais detectaram concentrações de CAF, variando de 4 à 228 ng L^{-1} . Dessa forma,

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

foi desenvolvido um método MISPE com parâmetros de exatidão adequados, para a quantificação de CAF em amostras de água superficial.

Tabela 23. Recuperação da CAF em amostras de água superficial.

Amostra	CAF Adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CAF Recuperada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0	0,039 \pm 0,001	-
2	10	10,30 \pm 0,23	103,0
3	20	20,31 \pm 1,98	101,5

Comparando as sínteses realizadas, foi possível notar diferentes características de seletividade do material decorrente do processo/reagente de síntese. Ao observar os HMIPs sintetizados, com base inorgânica, notou-se resultados superiores de capacidade de extração, seletividade e FI para o HMIP-S, mas em comparação ao HMIP-S, apresentou capacidade adsortiva inferior. No entanto, o HMIP-S demonstrou seletividade relativa, praticamente, duas vezes maior que o HMIP-S, tendo em vista os materiais sintetizados até aqui.

Os MIPs produzidos apresentaram FI maior que a maioria dos trabalhos da literatura e o HMIP-SG foi o maior FI relatado, até então, para os MIPs com a CAF e com como MM. Para se ter um panorama, foram pesquisados parâmetros de seletividade dos MIPs da literatura, sintetizados para a CAF. Os mesmos estão elencados na Tabela 24. Observou-se, neste trabalho, resultados superiores para os MIPs produzidos (HMIP-SG e HMIP-S podem ser utilizadas como fases sólidas seletivas em extrações da CAF para diferentes matrizes.

Tabela 24. Dados de FI e parâmetro de seletividade de MIPs para reconhecimento de CAF.

Polímero	FI	K	Kr	Referências
Sol-gel	-	4,14	-	94
Sol-gel híbrido	20,5	\cong 1,1	-	13
Radicalar	1,54	-	-	133
Radicalar	6,54	-	-	121
Radicalar	2,75	-	-	122
Radicalar	1,6	9,64	-	11
Radicalar	\cong 2,4	2,5	2,75	123
Radicalar	\cong 2	-	-	39
Sol-gel híbrido	\cong 10	-	-	116

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

Sol-gel híbrido	22,5	21,8	15,3	Este trabalho
Radicalar Híbrido	4,75	14,8	7,3	Este trabalho

4.4 CONCLUSÃO

Neste capítulo, os HMIPs foram desenvolvidos por três diferentes processos de síntese radicalar e amplamente caracterizados, possibilitando evidenciar as suas diferenças e, através das propriedades de seletividade e impressão, selecionou-se o HMIP-S, com as melhores características de adsorção, para extrair a CAF em amostras de águas superficiais. Os resultados de caracterização obtidos por MEV, FT-IR e TGA confirmaram a presença de matriz orgânica e inorgânica na rede polimérica, atestando a síntese do material com propriedades híbridas.

Com relação às propriedades adsorptivas, constatou-se que a cinética de adsorção foi semelhante nos três polímeros sintetizados (180 min), indicando que o processo de síntese não influenciou, significativamente, nos mecanismos difusivos dos materiais. As cinéticas adsorptivas foram governadas pelo modelo de pseudo-segunda ordem, assim como o equilíbrio adsorptivo que se ajustou ao modelo de Langmuir-Freundlich para dois sítios. Tais fatos demonstram que os materiais sintetizados apresentam sítios de energias distintas de adsorção com organização das espécies químicas na superfície do material como modelos de multicamadas. As energias distintas podem estar relacionadas à presença da carboxila e dos agrupamentos amida dos MFs empregados, que se ligam às forças distintas na CAF. As interações entre a MM e o HMIP são redominantes de ligações de hidrogênio.

Quanto aos parâmetros de seletividade, os materiais apresentaram, pelo menos, 4 vezes mais seletivos à CAF que seu respectivo polímero controle, com seletividade relativa próxima ao FI constatado. Para o HMIP-S, a seletividade obtida foi bastante elevada em relação às espécies análogas. No entanto, o HMIP-S apresentou vasta distribuição de sítios de CAF, em comparação aos demais materiais, propiciando sua aplicação como fase sólida no procedimento de HMISPE. A detecção da CAF, em amostras fortificadas, utilizando o método HMISPE apresentou resultados superiores de recuperação ($\cong 100\%$) que demonstra a eficiência e a robustez do material para extrair a CAF, sendo minimamente afetado pelo efeito matriz das águas superficiais.

Diante da alta seletividade do HMIP-S, que extraiu altos níveis da CAF, em amostras reais da sua alta capacidade adsorptiva e, principalmente, da rápida adsorção

Síntese e caracterização de polímeros molecularmente impressos radiculares híbrido para a determinação de cafeína

da CAF, nas primeiras horas de contato do analito, decidiu-se que, dentre os materiais sintetizados HMIP-S, poderia ser adequado para aplicar nos estudos de extração da CAF em amostradores passivos. Além disso, o HMIP-S apresenta propriedades híbridas e partículas regulares, que melhor se adequaria à fabricação das membranas do amostrador DGT, que é o foco deste presente trabalho. Assim, o próximo capítulo se dedicará aos estudos do HMIP-S, como fase ligante em amostradores DGT, para a extração seletiva da CAF *in situ*.

**Capitulo 5 - Amostrador o-DGT para a
determinação de cafeína em amostras aquosas**

5 AMOSTRADOR O-DGT PARA A DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA EM AMOSTRAS AQUOSAS

5.1 INTRODUÇÃO

A amostragem passiva para determinação de CE, em corpos aquáticos, utilizando DGT vem se apresentando como uma alternativa promissora para detectar essas concentrações de maneira mais fidedigna¹³⁴. Esse tipo de amostragem pode fornecer várias vantagens sobre a amostragem tradicional, como: medição *in situ* das concentrações, em tempo real, seletividade de extração, pré-concentração e melhora dos limites de detecção decorrentes da intensa redução dos efeitos de interferência da matriz. Além disso, a confecção e a aplicação do DGT apresenta-se, normalmente, com um baixo custo de manutenção e facilidade de implantação^{47,52,114}.

O DGT foi desenvolvido originalmente para fornecer medições quantitativas de espécies lábeis inorgânicas em sistemas aquáticos naturais⁵³. Estudos realizados, nas últimas décadas, mostram que a técnica difusão, em filmes finos, por gradiente de concentração, para compostos orgânicos (o-DGT), emergiram como uma ferramenta de amostragem quantitativa com bons resultados às espécies químicas orgânicas em matrizes aquosas^{56,119,129,135}. Os o-DGTs podem ser aplicados diretamente no campo sem calibração no local, pois o transporte do analito é controlado, exclusivamente, por sua difusão molecular e pela espessura da camada de difusão. Assim, essa abordagem não é sensível às condições hidrodinâmicas, que é uma vantagem importante sobre os outros amostradores passivos^{52,53}.

Com relação à fase ligante dos o-DGT, se faz necessária a busca por alternativas, visando à aplicação dos dispositivos, para abranger um maior número de substâncias orgânicas. Uma possibilidade promissora, já relatada em dois trabalhos na literatura^{60,62}, consiste em empregar o MIP como fase adsorvente. Os MIPs são materiais robustos, de fácil preparo, projetáveis, reutilizáveis e bastante seletivos ao analito alvo, aliando maior seletividade de extração para o amostrador.

Dessa forma, o objetivo deste presente capítulo foi desenvolver uma técnica de o-DGT, empregando o HMIP-S, como fase ligante (GL-HMIP-o-DGT), para extração seletiva de CAF em matrizes aquosas ambientais. As influências do pH da solução e da força iônica, no desempenho do GL-HMIP, foram investigadas e o desempenho do GL-HMIP-o-DGT para a medição de CAF foi avaliado em condições de laboratório.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Reagentes e equipamentos

Os reagentes e equipamentos foram os mesmos, anteriormente, listados no item 3.2.1 e 3.2.2 e no capítulo III, além de padrão de agarose; NaNO₃, Cromoline; Agitador de Frascos com Movimento Orbital, EthikTechnology; Capela de Fluxo Unidirecional Laminar vertical, Veco; placas de vidro com espaçadores de 0,5 e 0,8mm; Dispositivos DGT (pistão - 2,5 cm de diâmetro e tampa com janela de 2 cm) (DGT Research Limited, Reino Unido);

5.2.2 Preparação da membrana difusiva de agarose

A preparação dos discos de membrana de agarose empregados como gel difusivo no DGT, foi realizada de acordo com Chen e colaboradores⁵⁰, salvo algumas adaptações. Para obter o gel de composição 1,5 % m/v, diluiu-se 0,18 g de agarose em 12 mL de água ultrapura. A mistura foi levada ao micro-ondas para aquecimento até a total dissolução da agarose. A solução de gel dissolvida foi vertida, imediatamente, com o auxílio de uma pipeta, entre duas placas de vidro pré-aquecidas, contendo um espaçador de 0,8 mm. Na sequência, foi deixada na capela de fluxo laminar até atingir a temperatura de gelificação (36 °C aproximadamente) (Figura 37). Após a gelificação, os géis foram seccionados em discos de 2,5 cm, imersos numa solução de nitrato de sódio 0,05 mol L⁻¹ e armazenados na geladeira (4 °C).

5.2.3 PREPARAÇÃO DE FASE DE LIGAÇÃO

A fase ligante (GL-HMIP) foi preparada, inicialmente, em duas proporções da fase solvente (HMIP-S), 0,6 g (5 % m/v) e 1,2 g (10 % m/v) em 1,5 % (m/v) de agarose. Para a imobilização do HMIP-S, o procedimento consistiu, primeiramente, na preparação da solução da membrana de agarose, conforme descrito no item anterior, e, posteriormente, foi adicionado a essa solução 5 % (m/v) e 10 % (m/v) de HMIP-S. Essa mistura foi vertida entre as placas de vidro pré-aquecidas, contendo espaçadores de 0,5 mm e a seguir foram deixadas na capela de fluxo laminar, permanecendo no suporte até atingir a temperatura de gelificação. Posteriormente, a membrana foi seccionada em discos com diâmetro de 2,5 cm (Figura 37-b). Tais discos foram imersos em solução de nitrato de sódio 0,05 mol L⁻¹ e armazenados em refrigerador a 4 °C.

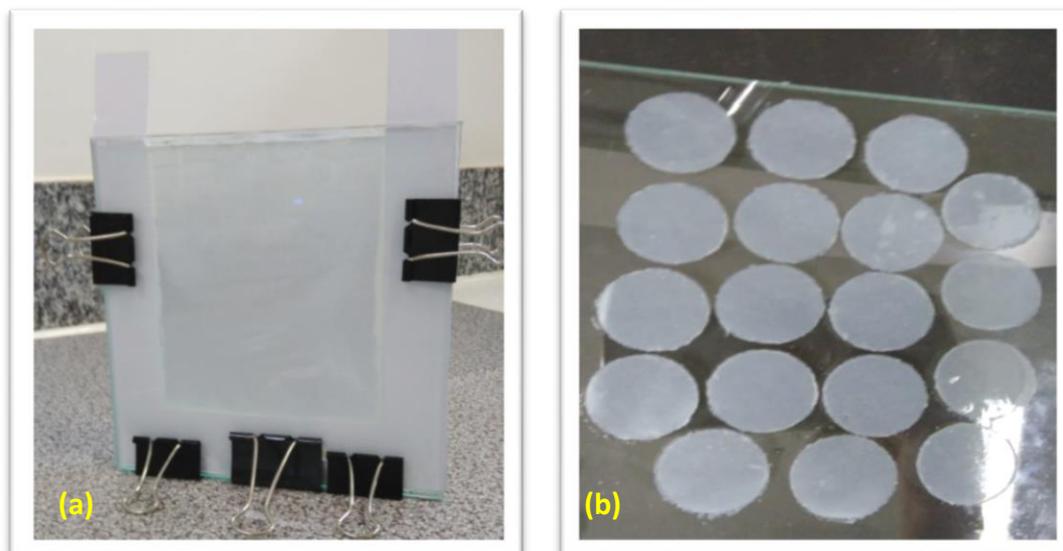


Figura 37. (a) GL-HMIP entre as placas de vidro e (b) discos ligantes destacados.

5.2.4 Estudo da capacidade de adsorção GL-HMIP

Os discos de GL-HMIP 5 % e 10 % foram expostos a várias concentrações de CAF (100, 500, 1000, 1500 e 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$), para a avaliação da adsorção. Os referidos discos foram imersos em 10,0 mL de soluções de CAF, em meio aquoso, com força iônica de 0,01 mol L^{-1} (NaNO_3) em erlenmeyers de 125 mL ($n = 3$). Os frascos foram deixados em agitação por 24 horas.

O procedimento de dessorção foi baseado na proposta de Chen e colaboradores⁵⁸ com algumas adaptações. Dessa forma, o procedimento foi estabelecido, através da inserção de discos de GL-HMIP, para tubos de ensaio de 10 mL, seguido da adição de 3,00 mL de metanol e dessorção, por 20 minutos, no banho ultrassônico. Essa etapa foi realizada em triplicata e as frações do solvente foram combinadas e concentradas por meio da evaporação total do extrato com N_2 . Logo após, o extrato seco foi dissolvido em 2,00 mL de água ultrapura e, em sequência, foi filtrado com um filtro de polivinilideno (tamanho de poro de 0,22 μm). Por fim, a quantificação da CAF foi conduzida por HPLC-UV.

5.2.5 Planejamento fatorial para investigação de fatores que influenciam a adsorção da CAF na GL-HMIP

Para verificar as variáveis, que propiciam a adsorção da CAF na GL-HMIP, com maior capacidade adsorptiva, foi empregado um planejamento fatorial 2^2 com triplicata no ponto central (PC). Foi avaliada a influência da força iônica e do pH da amostra, em

dois níveis, conforme Tabela 25. A variável resposta foi a massa de CAF adsorvida. Sete experimentos foram realizados, em sequência aleatória, conforme valores codificados na Tabela 26. Os discos de GL-HMIP foram imersos, em 10,00 mL de solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de CAF, contida em erlenmeyers de 125 mL, mantidos em agitação orbital, de 100 rpm, por 96 h. A determinação da CAF remanescente, nas soluções, foi realizada por HPLC-UV. O ajuste de pH foi realizado, utilizando soluções diluídas de HCl e NaOH, enquanto a força iônica foi ajustada com solução NaNO_3 .

Tabela 25. Fatores e níveis estudados durante o planejamento experimental

Fatores	Níveis de variação dos fatores	
	-1	1
Força iônica	$0,01\text{mol L}^{-1}$	$0,1\text{mol L}^{-1}$
pH	4	7

Tabela 26 Matriz do planejamento fatorial 2^2 em sua forma codificada

Ensaio	Fatores	
	Força iônica	pH
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

5.2.6 Estudos de dessorção das substâncias adsorvidas no GL-HMIP

Após o procedimento de adsorção estabelecido, no item 5.2.5, foram avaliados os seguintes parâmetros de dessorção, em sequência: tipo de solvente; o pH da solução eluente; volume do solvente; tempo de dessorção e número de eluições. Em todos os procedimentos, os discos contendo HMIP foram mantidos imersos por 72 h, em 10,0 mL de solução aquosa $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de CAF, sob agitação, em homogeneizador horizontal, a 100 rpm a 25°C ($n = 3$).

Os seguintes solventes foram avaliados: MeOH, ACN, ACN/MeOH (3:1, v/v), MeOH/ACN (3:1 v/v) e MeOH/ACN (1:1, v/v). Após a seleção do solvente mais adequado, foram realizados testes envolvendo o pH da solução de dessorção com valores de pH 3, 5, 7 e 9. Em seguida, foi avaliado o volume do solvente de 1, 2, 3, 4 e 5 mL. A fim de estudar o equilíbrio de dessorção da CAF retida nos discos de GL-HMIP, empregou-se o banho ultrassônico durante 2, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos. Por fim,

foram testadas uma a uma as quatro eluições sequenciais, utilizando as condições otimizadas anteriormente.

5.2.7 Determinação do Fator de Eluição

A determinação do fator de eluição foi realizada, adicionando-se os GL-HMIP (n=5) em 10,00 mL de solução de CAF $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Os frascos foram deixados num agitador orbital (Tecnal TE-420), por 72h, sob agitação de 100 rpm e temperatura de 25 °C. A dessorção da CAF foi realizada empregando os parâmetros otimizados no item 5.2.6.

5.2.8 Determinação do Coeficiente de Difusão aparente da CAF

Com objetivo de determinar o coeficiente de difusão foram construídos amostradores DGT, conforme procedimento estabelecido. Sobre o pistão de polipropileno (Figura 38) foi disposta a fase ligante (GL-HMIP) e sobre a mesma, colocou-se o gel difusivo e a membrana filtrante (acetato de celulose). Em seguida, as membranas foram fixadas com uma capa de polipropileno, contendo uma janela de 2 cm de diâmetro, conforme a Figura 38. Os o-DGTs foram submersos em 2,0 L de uma solução de CAF $20 \mu\text{g L}^{-1}$. O coeficiente de difusão aparente pode ser estimado, através da Equação 5 que resultará numa curva de tempo de contato dos dispositivos, versus massa recuperada de CAF. Para isso, a solução foi analisada nos seguintes tempos: (n=3): 1 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h, 60 h. Posteriormente, a dessorção da CAF, retida na fase ligante, foi realizada empregando as condições previamente otimizadas.

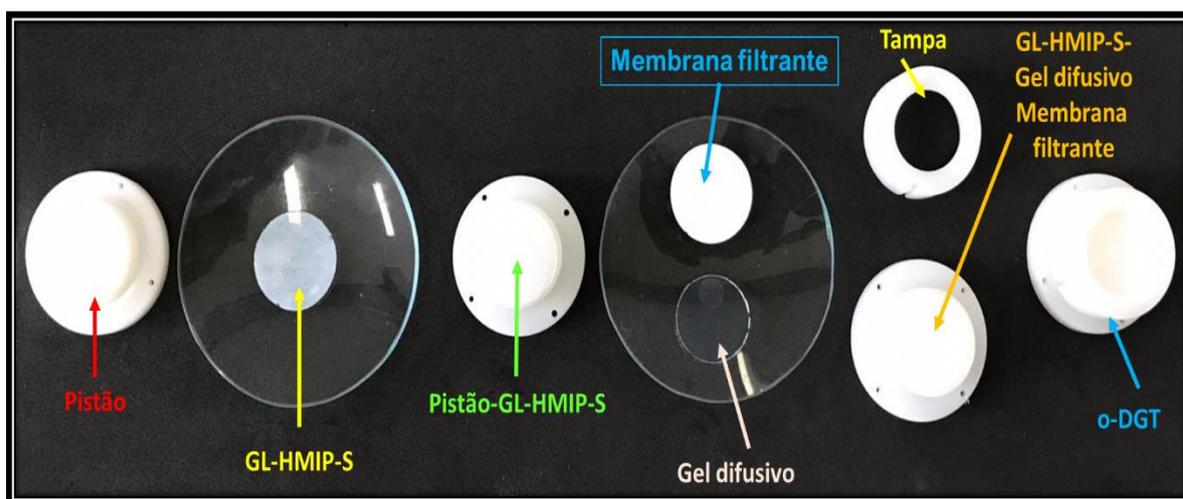


Figura 38. Montagem do dispositivo DGT

5.2.9 Efeito do pH e da força iônica na adessorção das substâncias com a utilização do GL-HMIP-o-DGT

Para verificar a sorção da CAF, nos amostradores, realizou-se uma otimização do pH e da força iônica, conforme procedimento descrito item 5.2.5, com algumas adaptações. Os amostradores foram mantidos, em contato com a solução de CAF, na concentração de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, por 96 h, a temperatura ambiente. Os fatores e níveis de pH e força iônica estão descritos nas Tabelas 27 e 28. A otimização aplicada foi um planejamento 2^2 com triplicata no ponto central.

Tabela 27. Fatores e níveis estudados durante o planejamento experimental 2^2 .

Fatores	Níveis de variação dos fatores	
	-1	1
Força iônica	0,01 mol L ⁻¹ de NaNO ₃	0,05 mol L ⁻¹ de NaNO ₃
pH	5	9

Tabela 28 Matriz do planejamento fatorial 2^2 em sua forma codificada

Ensaio	Fatores	
	Força iônica	pH
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

5.2.10 Aplicação do DGT

A aplicação do o-DGT, em amostras de água para consumo, foi realizada em ambiente laboratorial, utilizando água tratada pela Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB). As amostras foram coletadas no Instituto de Química da UnB e as amostras de água superficial coletadas do Lago Paranoá, Brasília - DF. A água de consumo foi coletada a partir de uma das torneiras dispostas no Laboratório de Instrumentação Automação e Miniaturização Analítica (LIAMA – UnB). Registra-se que foi descartada a água jorrada, nos primeiros minutos, e, em seguida, 70 L foram coletados e transferidos para um aquário de 90 L de capacidade. Dez amostradores foram mergulhados no recipiente e no aquário, contendo 70 L de água. A amostra foi mantida em agitação através de uma bomba de aquário. Para fins de estudo

aferiu-se o pH do sistema que se apresentou em torno de 7 e a temperatura média, durante 7 dias, foi de $21,5 \pm 2,9$ °C. Ao final do período, os o-DGTs foram retirados e, na sequência, foi realizada a dessorção das membranas ligantes de acordo com as condições estudadas. Posteriormente, para investigar efeitos de matriz, foi realizado o procedimento descrito, anteriormente, com um *spike* de solução de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de CAF.

Para o estudo, em amostras, de água superficial foram coletados 70 L de água, na superfície do Lago Paranoá, no DF, com o auxílio de frascos de PTFE, previamente, ambientados com as amostras. No laboratório, a amostra foi transferida para um aquário com capacidade de 90 L. Os ensaios adsorptivos ocorreram nas mesmas condições acima mencionadas e a temperatura média registrada foi de $18,5 \pm 3,5$ °C.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Estudo da capacidade de adsorção GL-HMIP

Os experimentos de adsorção e dessorção com a membrana GL-HMIP foram realizados, por meio do contato direto das membranas, com soluções de CAF e sob agitação constante. Com relação à percentagem de HMIP-S, empregada como fase ligante, apresentou-se adequada e seletiva para extrair a CAF. A membrana que possuía 10 % do HMIP-S adsorveu maiores quantidades de CAF (~6 µg), (Figura 39), quando comparada à membrana com 5% de HMIP-S. Assim, optou-se por fixar a concentração de HMIP-S, na membrana, em 10 %, para que além de adsorver maior massa de CAF pudesse aumentar a precisão intermedidas.

Ainda, pode-se observar que a adsorção da CAF, na membrana ligante, aumentou de acordo com sua concentração. Portanto, os dados indicam que não houve saturação do GL-HMIP até a concentração de CAF máxima. Como nas amostras aquosas, a CAF se encontra em concentrações inferiores às utilizadas, neste estudo, logo, a saturação não seria um fator limitante para a determinação de CAF nas amostras de água superficial.

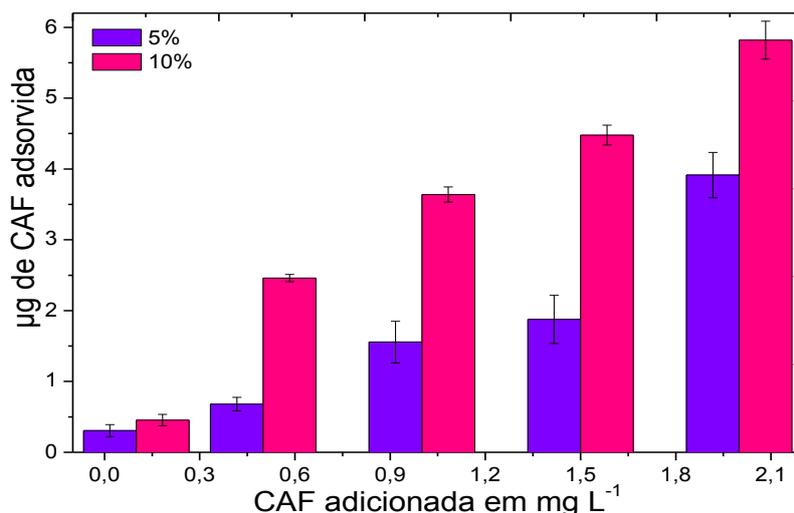


Figura 39. Gráfico de sorção de CAF em membranas de 5% e 10%.

5.3.2 Planejamento fatorial para investigação de fatores que influenciam na adsorção da CAF na membrana de ligação

As melhores condições de pH e força iônica, para interação da CAF, na fase ligante, foi realizada a partir do planejamento experimental 2² com triplicata no ponto central. Observando a Figura 40, notou-se que ambos os fatores foram significativos para a adsorção da CAF num nível de confiança de 95 %. O efeito da força iônica apresentou contribuição negativa para a resposta. Desse modo, quanto menor a força iônica maior a sorção de CAF, portanto, para os estudos de sorção foi adaptada a força iônica para 0,01 mol L⁻¹. Provavelmente, esse resultado se dá por possíveis interações entre os íons da solução e do analito, quando forem usadas altas concentrações salinas. Dessa forma, essas interações podem diminuir a concentração de moléculas disponíveis de CAF, para sorver na membrana ligante e/ou realizar interações eletrostáticas entre os sítios mais polares do polímero e os íons Na⁺ e NO₃⁻¹³⁶.

A variação positiva do efeito do pH (7) foi a mais significativa para a variável resposta. Dessa maneira, o pH mais favorável para a adsorção foi 7 e como o pH da água do Lago Paranoá e de águas superficiais, em geral, encontram-se em torno de 7, decidiu-se estabelecer esse valor de pH para realizar a amostragem o-DGT. Uma provável razão para o aumento da adsorção nesse pH seria que, em meio ácido, poderia haver a competição dos íons H⁺ pelos sítios de ligação no polímero, diminuindo a interação HMIP-CAF¹³⁷. Além disso, não há efeito expressivo da relação entre os dois

parâmetros pH e força iônica. Nesse contexto, os estudos posteriores de otimização dessa membrana serão conduzidos com pH 7 e força iônica de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

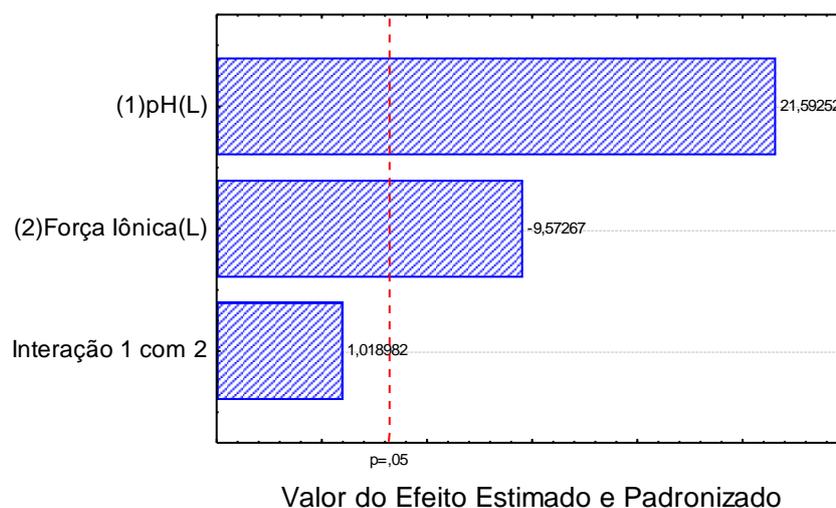


Figura 40. Gráfico de Pareto dos fatores estudados.

5.3.3 Otimização da dessorção da CAF em GL-HMIP

A dessorção dos analitos, em amostragem passiva, é o processo que envolve a extração das espécies retidas na fase ligante para uma fase aquosa. Assim, é adequado que o GL-HMIP, empregado no DGT, apresente um desempenho significativo na adsorção e, também, na dessorção da CAF. Neste trabalho, inicialmente, foram testados diferentes solventes de extração, já empregados em trabalhos da literatura, a fim de se obter maior interação com a CAF e extraí-la do MIP^{11,13,81}.

Como podemos observar pela Figura 41, o solvente que apresentou maior massa dessorvida de CAF e com um menor desvio padrão foi a solução MeOH/ACN (3:1). Essa mistura apresentou força suficiente, para instabilizar e romper a ligação entre o analito e a fase sólida, que provavelmente é formada por ligações de hidrogênio. Os parâmetros δ e ϵ^0 podem explicar porque, nesse sistema, essa mistura pode ser um bom eluente para a CAF. Ambos os solventes possuem valores semelhantes de δ (12,9 para o metanol e 11,7 para acetonitrila) e de ϵ^0 (0,95 para o metanol e 0,65 para acetonitrila). A semelhança entre os parâmetros de Hildebrand dos solventes e da CAF ($\delta = 13,8$)¹³⁸ prevê que esses compostos formem misturas entre si¹³⁹, além disso, os valores de ϵ^0 , de ambos os solventes, são alguns dos mais altos da série eluotrópica. Portanto, a acetonitrila e o metanol possuem alto poder de eluição para um composto polar como a CAF¹³⁹.

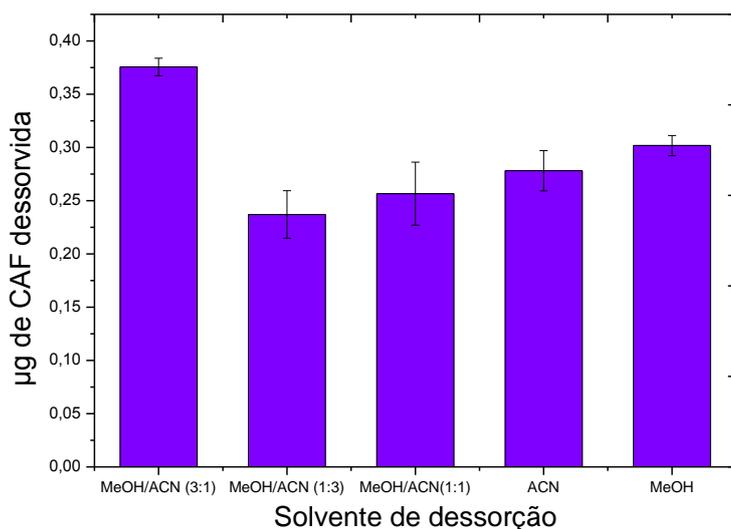


Figura 41. Massa desorvida em função do solvente.

A Figura 42 demonstra que o pH 7 e 9, para o solvente de eluição, não apresentaram diferenças significativas, em recuperação da CAF, para um nível de confiança de 95%. Observou-se que na faixa de neutro – básico foi a que propiciou maior recuperação da concentração da CAF. Assim, tais fatores indicam que as interações entre CAF e eluentes são favorecidas pela estrutura do analito em sua forma básica. Nesse pH, a CAF é constituída por grupos amina e amida que permitem estabelecer ligações de hidrogênio com solventes próticos, além de conferir polaridade necessária para interações do tipo dipolo com ACN e ligações de hidrogênio com o MeOH. Uma similaridade com esse resultado foi relatada por Chen e colaboradores (2012), com a aplicação de DGT para amostragem de antibióticos em água sob condições levemente ácidas. A taxa de amostragem diminuiu com o aumento do pH, mas não houve diferença estatística entre pH 7 e 9⁵⁰.

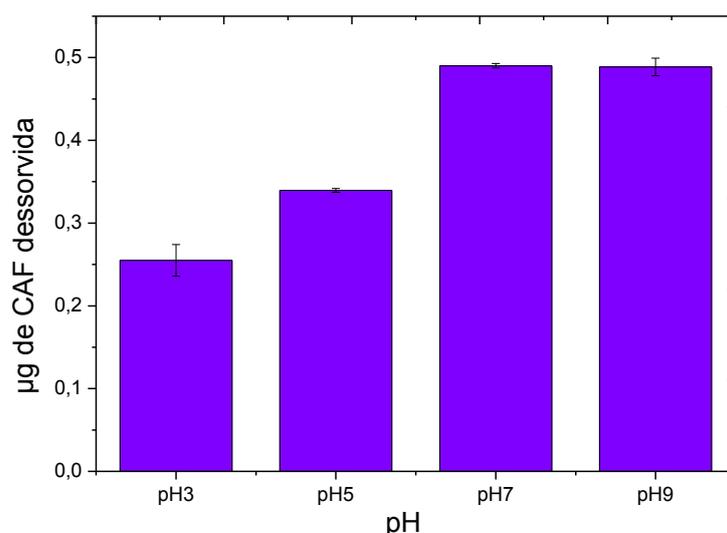


Figura 42. Massa desorvida de CAF para diferentes pHs.

De acordo com a Figura 43, a quantidade de CAF desorvida aumentou com o aumento do volume de solvente, permanecendo inalterada após 3,0 mL. Observou-se que a partir de 3 ciclos de eluições sequencias não houve mais diferenças significativas nas quantidades de CAF desorvida (Figura 44). Esse fator pode estar relacionado com o valor de $\log K_{ow}$ da CAF 0,01, que sugere maior afinidade com o solvente. Deste modo, optou-se por utilizar 3 mL de solvente, com 3 extrações sequenciais, a fim de se obter uma melhor desorção da CAF.

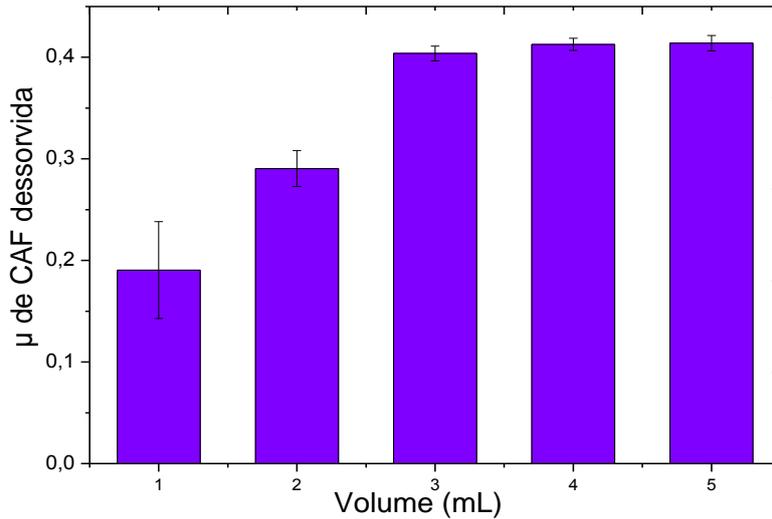


Figura 43. Massa de CAF desorvida empregando-se diferentes volumes de solvente.

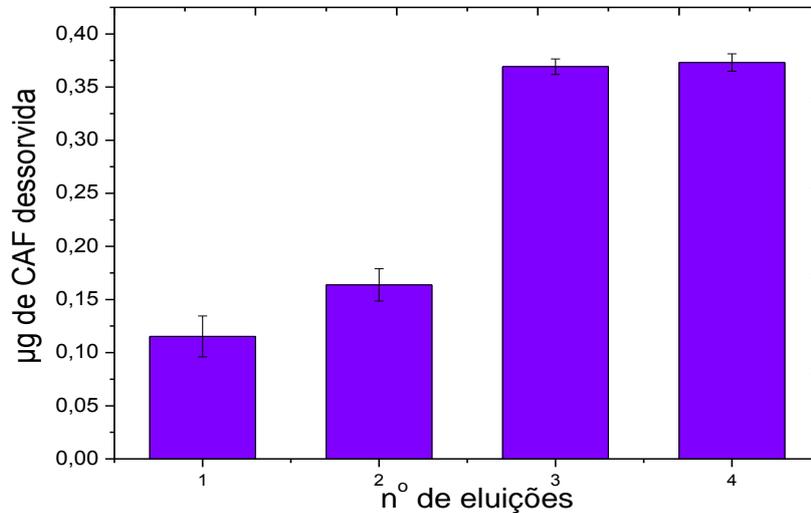


Figura 44. Massas desorvidas de acordo com o número de eluições.

A Figura 45 mostra o efeito do tempo para as concentrações desorvidas da CAF nas membranas. Observou-se que o aumento da massa desorvida de CAF é proporcional ao aumento do tempo de contato entre GL-HMIP e a CAF. Esse resultado apresentou-se condizente, diante dos múltiplos processos que envolvem a quebra e a formação de ligações e o deslocamento do analito sorvido da fase sólida para a fase

líquida. Através do teste t de Student foi comprovado que não há diferença significativa ($t=0,05$) entre o emprego do banho ultrassônico, na faixa de 20 a 30 minutos, e a agitação orbital. Por esses motivos e por propiciar uma diminuição significativa do tempo do processo de dessorção, foi estabelecido o tempo de 25 minutos para dessorver o analito da GL-HMIP.

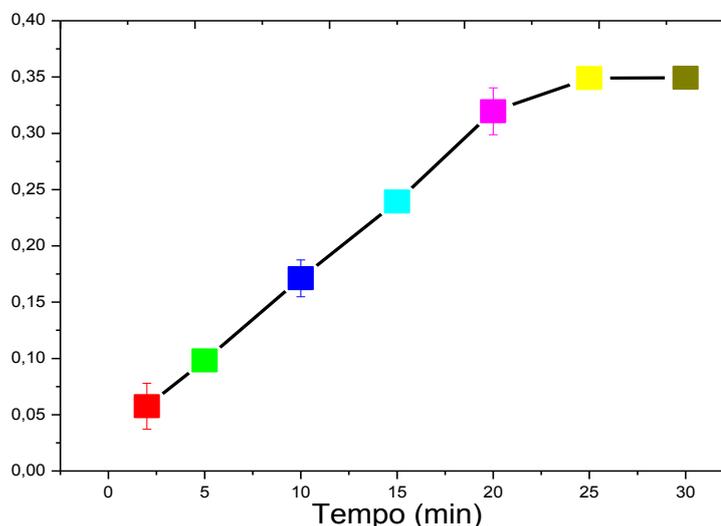


Figura 45. Massas de CAF desorvidas empregando-se diferentes tempos de eluição.

A partir das condições de dessorção da CAF otimizadas, realizou-se o estudo do fator de eluição (f_e). Esse estudo objetivou mensurar a eficiência de recuperação dos compostos sorvidos por meio do emprego do solvente eluente. Além disso, esse dado é empregado como um fator de correção, para a medida de concentração do analito após a amostragem com o o-DGT.

É desejável que a membrana GL-HMIP seja capaz de reter o máximo de CAF, em meio aquoso e que, também, na etapa de dessorção todo o analito na membrana ligante seja carregado pelo solvente. Assim, a razão entre a massa eluída e a massa retida (Equação 7) deve se aproximar de 1. O fator de eluição obtido foi de 0,89, demonstrando que, aproximadamente, 89% da CAF foi sorvida, em GL-HMIP, e eluída da fase ligante pelo processo de dessorção. Resultado satisfatório e superior, portanto, semelhante aos encontrados em estudos de analitos orgânicos como herbicidas (f_e de 0,74 para Bentazon)¹⁴⁰, compostos organometálicos (f_e de 0,74 para dibutilestanho)⁴⁹, além de drogas ilícitas como metanfetamina (f_e de 0,86)⁵⁷.

5.3.4 Efeito do pH e da força iônica na sorção das substâncias com a utilização do GL-HMIP-o-DGT

Foram conduzidos estudos para avaliar a adequação do GL-HMIP-o-DGT, em condições ambientais, das águas superficiais. O pH de águas naturais encontra-se na faixa de 5–9 e a força iônica em torno de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, para águas doces e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para água marítimas⁵⁰. Assim, com base nesses valores realizou-se um planejamento experimental, objetivando avaliar a influência dessas variáveis. Estabeleceu-se como fatores: a força iônica de $0,01$ a $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (NaNO_3) e do pH de 5-9.

Observa-se pelo gráfico de Pareto (Figura 46), que a força iônica, no nível inferior, apresentou-se significativa, para proporcionar melhores condições adsorptivas da CAF no intervalo de confiança de 95 %. Isso indica que a aplicação dos dispositivos o-DGT, em ambientes de água doce, força iônica ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$), proporcionará respostas adequadas. O planejamento, também, demonstrou que o pH 5 apresenta significância no nível inferior.

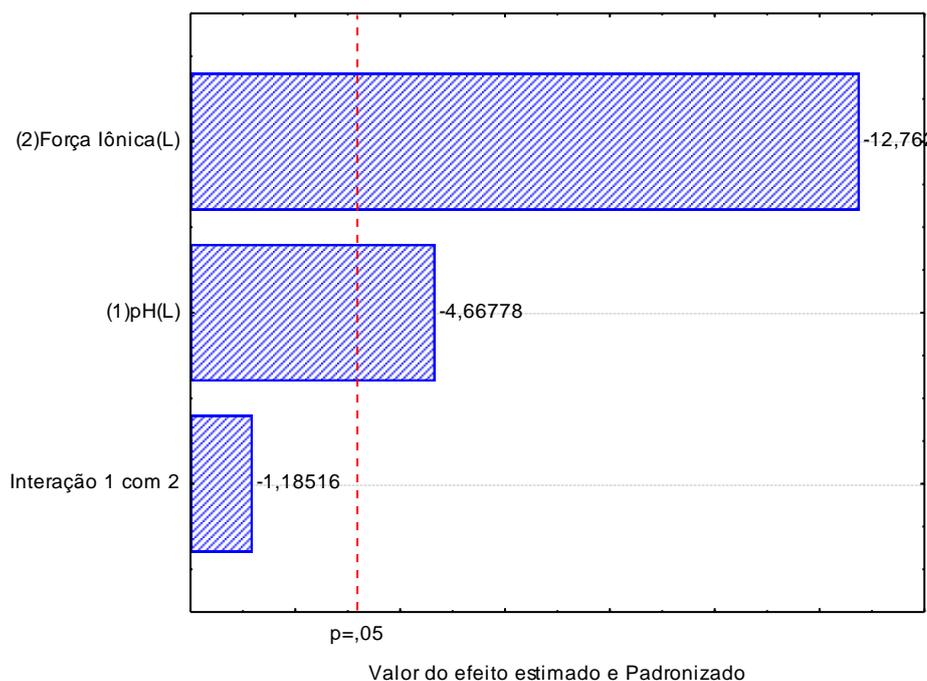


Figura 46. Gráfico de Pareto dos fatores estudados.

A superfície reposita resultante (Figura 47), representa de forma mais clara que a região de maior massa adsorvida de CAF é na força iônica de nível inferior. Entretanto, p, que a faixa de pH, onde pode ocorrer a adsorção, varia do ponto central ($0,0 = \text{pH } 7$), ao nível inferior, corroborando com os valores obtidos no estudo de pH de adsorção da GL-HMIP, conforme dados observados no estudo para 4-clorofenol, apresentando

desempenho aceitável em pH neutro, mesmo sendo uma molécula ácida ⁶⁰. Nesse contexto, os estudos posteriores de otimização serão conduzidos com pH 7 e em água doce. Pôde-se observar, ainda, que a força iônica, também, tem uma faixa de sorção que varia do nível -1 ao ponto central.

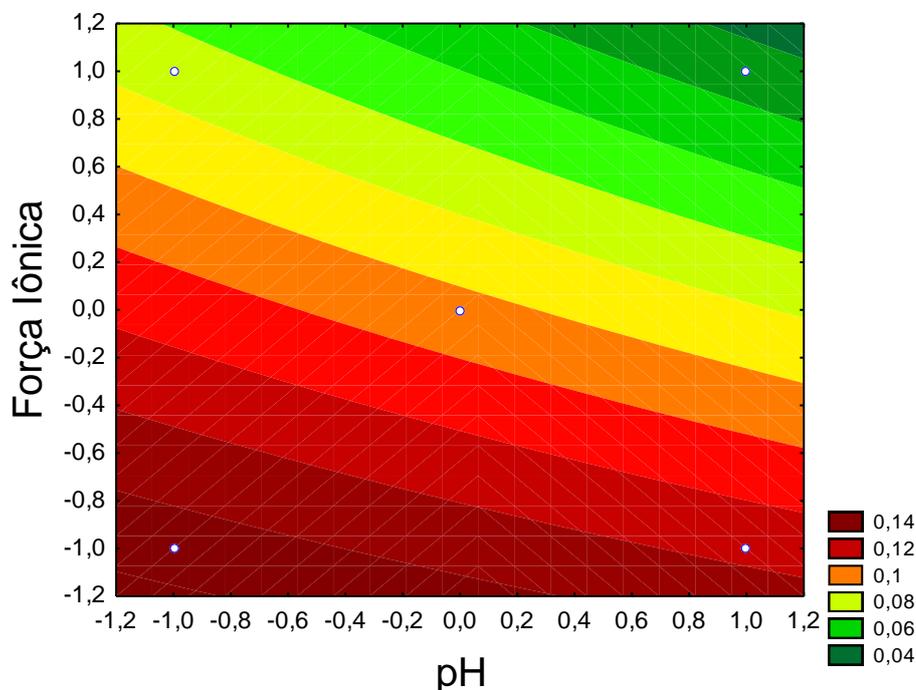


Figura 47. Superfície resposta dos fatores estudados.

5.3.5 Determinação do coeficiente de difusão aparente

O coeficiente de difusão prediz a capacidade das espécies ao migrarem para a fase ligante do amostrador, tornando esse parâmetro essencial, visto que a difusão do analito para a fase ligante/membrana difusiva é o que governará todo mecanismo de adsorção. Assim, é comum determinar um coeficiente de difusão, que é característico de cada composto, a ser estudado naquele meio de amostragem. A determinação do coeficiente de difusão não foi realizada, utilizando uma célula de difusão, mas sim de maneira indireta. Dessa forma, os amostradores o-DGT foram aplicados em diferentes tempos de exposição e, posteriormente, foram determinadas as massas de CAF difundidas pelo gel de agarose¹⁴¹.

Constata-se, também, que coeficiente de difusão pode sofrer significativas variações a partir do tipo de analito, da membrana de difusão e da temperatura do sistema estudado. Assim, o coeficiente de difusão aparente, (D') da CAF, no gel de agarose, foi determinado por meio da Equação 5, controlando a temperatura e o tempo

de amostragem (t). Como fora descrito pelo item 5.2.8, foi possível construir o gráfico de massa de CAF, pelo tempo de contato da mesma, com a fase ligante/gel difusivo.

O D' desse dispositivo para CAF foi estimado em $1,575 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e a curva, obtida no ensaio (Figura 48), demonstra que a correlação entre massa retida no GL-HMIP e tempo de contato com a solução de CAF, foi linear, com R^2 de 0,9887. Além disso, o aumento de massa de CAF, em função do tempo de contato estabelecido, demonstra que não houve a completa saturação da GL-HMIP. Tais dados corroboram com valores encontrados por Chen *et al.*⁵⁸ que determinaram o D' para diversos antibióticos, com valores que variaram de 0,58 a $6,24 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ na temperatura de 25 °C. Challis e colaboradores⁵¹ encontraram valores para alguns fármacos e pesticidas, que variaram de 1,02 a $4,74 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

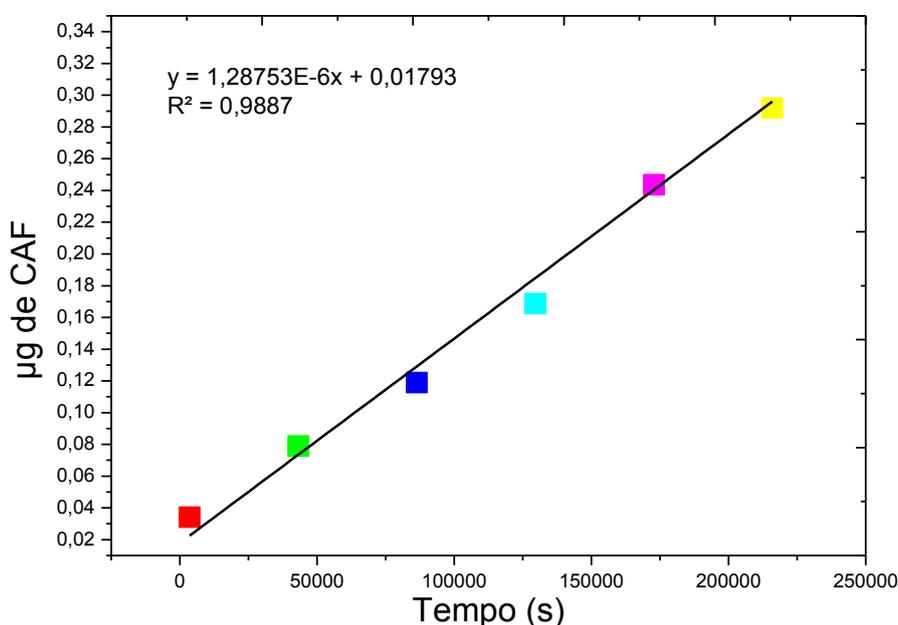


Figura 48. Massa de CAF em GL-HMIP por tempo de contato.

Quando o amostrador foi aplicado em amostras reais, não foi possível controlar a temperatura, sendo apenas conhecida a temperatura média durante a amostragem. Por essa razão, a correção do D' se torna fundamental, para que não ocorram problemas de subestimação ou superestimação da concentração da substância no ambiente. A partir do D' obtido, a temperatura de 25 °C (D_{25}), foi possível calcular o coeficiente de difusão (D_t), na temperatura média das amostras (t , em °C), utilizando a Equação 21⁵⁸ (CHEN *et al.*, 2013). Para este estudo, o valor do D_t foi estimado em $1,2966 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

$$\log D_t = \frac{1,37023(t-25)+8,35 \times 10^{-4}(t-25)^2}{109+t} + \log \frac{D_{25}(273+t)}{298} \quad (21)$$

5.3.6 Aplicação do DGT em água de consumo e de superfície

As matrizes ambientais são consideradas complexas devido à alta variabilidade de espécies químicas, presentes em diferentes concentrações, e quando forem utilizados os amostradores, esse efeito, ainda, apresenta-se mais proeminente, diante das impurezas maiores que podem prejudicar a extração. Perante à seletividade dos MIPs, é possível realizar extrações mais específicas, com interferência de matriz, intensamente, reduzida.

Pôde-se observar os resultados de recuperação pelo método GL-HMIP-o-DGT, através da Tabela 29, e foram estimados as concentrações de CAF na ordem de 17 ng L⁻¹. O valor encontrado, a partir desse trabalho, foi semelhante aos de outros estudos, em água para consumo no Brasil^{16,42}. Ao fortificar as amostras, de água para consumo, obteve-se 97% de recuperação, demonstrando a robustez do MIP, como fase ligante, mantendo sua performance frente ao intenso efeito de interferência de matriz.

Os resultados obtidos, a partir da aplicação dos dispositivos GL-HMIP-o-DGT, em águas superficiais, apresentou concentração (0,0496±0,0097 µg L⁻¹) que corroboram com estudos realizados em águas superficiais do DF, por Sodré e colaboradores³. A análise da água superficial fortificada com CAF, obteve 1,005±0,031µg L⁻¹ de CAF sorvida nos DGTs. Esse resultado demonstrou o sucesso da técnica o-DGT com a utilização de HMIP-S, como fase ligante para mostrar a CAF em escala laboratorial.

Tabela 29. Recuperação da CAF com a utilização do o-DGT em amostras de água de consumo e água superficial.

Amostra	CAF Adicionada (µg L ⁻¹)	CAF Recuperada (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Água de consumo	0,0	0,017 ± 0,0016	-
Água de consumo	1,0	0,978 ± 0,059	97,85
Lago Paranoá	0,0	0,050± 0,009	-
Lago Paranoá	1,0	1,005 ± 0,031	100,49

5.4 CONCLUSÃO

A amostragem baseada no protocolo GL-HMIP-o-DGT demonstrou bons resultados, para extrair a CAF e quantificá-la com resultados próximos aos de monitoramento ambiental realizados em trabalhos recentes da literatura. A otimização detalhada, considerando todos os aspectos de adsorção/dessorção, bem como a adequação dos solventes possibilitou determinar as concentrações de CAF da ordem de ng L^{-1} , utilizando cromatografia líquida com detector simples, como o UV. Esse fator demonstra a eficácia do HMIP-S, como fase ligante, ao extrair e pré-concentrar a CAF na própria amostra, demonstrando que o amostrador desenvolvido pode ser aplicado com êxito em *in situ*.

O planejamento fatorial empregado possibilitou delimitar condições ótimas de adsorção e dessorção, considerando as propriedades químicas de pH (ambiente) e força iônica para as matrizes de águas estudadas. O dispositivo o-DGT apresentou f_e de 0,89, indicando recuperação de 89 % da CAF extraída, seletivamente, pelo HMIP como fase ligante. Esse f_e se mostrou superior aos valores registrados na literatura e, considerando a ausência de etapas de filtração e centrifugação da amostra, a recuperação e quantificação da CAF apresentou-se com resultados bastante satisfatórios.

Foi possível determinar o coeficiente de difusão aparente para CAF, em que o valor encontrado está na faixa dos relatados pela literatura para compostos orgânicos emergentes. O amostrador desenvolvido foi aplicado em amostras naturais de águas superficiais e para consumo, apresentando aspectos inovadores, considerando o desenvolvimento do amostrador, o uso de um MIP híbrido, como fase ligante, e, também, a extração da CAF *in situ* com resultados excelentes de pré-concentração, por meio de um método analítico de baixo custo.

Assim, o material, o método e a metodologia desenvolvida podem ampliar essa aplicação para estudos, em campo, que possibilitaria um panorama holístico acerca da inserção da CAF, por meio de interferência antrópica nos corpos aquáticos, através de um amostrador simples, versátil, de baixo custo e de fácil construção.

Capitulo 6 - Conclusões Gerais

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O presente trabalho desenvolveu fases sólidas, com seletividade adequada para a CAF, baseada em diferentes rotas sintéticas de impressão molecular. Ao observar os processos de síntese utilizados: condensação sol-gel e radicais livres, percebe-se que ambos possuem vantagens e desvantagens e é a aplicação desejada que irá definir o material mais adequado para tal. A CAF apresenta-se como uma MM bastante adequada para a síntese dos MIPs, devido às suas características químicas, a saber: solubilidade em água, rigidez estrutural moderada e quantidade de grupos funcionais. A adequabilidade dessa espécie, para imprimir cavidades, foi consolidada tendo em vista que todos os polímeros sintetizados apresentaram impressão da CAF nas matrizes.

Diante das muitas variáveis envolvidas, as ferramentas de planejamento possibilitaram obter polímeros com FI, superiores aos relatados pela literatura, tendo em vista que para o HMIP-SG foi observado o maior FI (22,5) com relação aos trabalhos pesquisados que utilizaram a CAF como MM para MIPs. O HMIP-S, também, demonstrou excelentes resultados como extrator seletivo para a CAF e devido à maior homogeneidade e tamanho de partículas, o mesmo foi aplicado nos estudos com DGT. Todavia, não há um impeditivo em se aplicar o HMIP-SG para a mesma abordagem, visto que a seletividade do material foi bastante alta.

As caracterizações adsorptivas demonstraram que os MIPs, em geral, apresentam heterogeneidade de adsorção e sítios de diferentes energias, confirmadas pelos ajustes de pseudo-segunda ordem e através de modelos matemáticos de Langmuir-Freundlich de dois sítios. Em todos os polímeros, os dados termodinâmicos indicaram espontaneidade adsorptiva e magnitude de ligações proporcionais às interações de hidrogênio.

As adequabilidades das fases sólidas apresentaram-se tão relevantes que foi possível desenvolver dois métodos diferentes para separar a CAF, em amostras, de águas superficiais. A aplicação do HMIP-SG e do HMIP-S, no procedimento de MISPE serviram como prova de conceito de seletividade dos materiais e da adequação dessas fases sólidas em extrair seletivamente a CAF. O método MISPE para o HMIP-SG apresentou recuperações de aproximadamente 93%. As amostras fortificadas apresentaram altos níveis de recuperação, variando de 101 a 103% e as concentrações de CAF assemelharam-se às encontradas em estudos da literatura que realizaram o monitoramento da CAF em águas naturais. O MISPE, com HMIP-S, demonstrou que o

referido polímero conseguiu detectar pequenas concentrações da CAF ($0,039 \pm 0,00041 \mu\text{g L}^{-1}$) por meio da pré-concentração em 5 vezes propiciada pelo método.

A aplicação de um MIP híbrido, como fase ligante para CAF, foi realizada de forma pioneira, considerando dispositivos CAF o-DGTs. Por meio do planejamento fatorial, as condições adsorptivas foram delimitadas para se adsorver a presença de altas concentrações da CAF. O amostrador o-DGT foi aplicado em amostras de água para consumo e água superficial do Lago Paranoá, obtendo concentrações de CAF de $0,017 \pm 0,002$ e $0,010 \pm 0,010 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. A abordagem utilizada GL-HMIP-o-DGT se apresentou como uma excelente ferramenta de amostragem de CAF por meio de um potencial de monitoramento, em intervalos de tempos pré-determinados, da concentração de CAF.

Por fim, a presença da CAF, nas matrizes investigadas, indica fortes contaminações de origem antrópica, que podem estar relacionadas às deficiências de remoção e tratamento de espécies químicas nas estações de tratamento de esgoto. Dessa forma, este trabalho foi importante por disponibilizar dados da qualidade da água à população do DF, bem como possibilitar delimitar os riscos toxicológicos envolvidos pela presença de CEs em águas naturais. Esse monitoramento pode, então, ser realizado através de uma metodologia analítica simples e acessível, com destaque para a detecção possível de ser empregada diante da alta seletividade dos materiais sintetizados. A CAF que se apresenta como um excelente indicador antrópico, pode ser monitorada, em escala temporal, através da amostragem estabelecida neste presente estudo.

Como perspectivas, pôde-se, ainda, explorar a utilização do HMIP-SG na fabricação do DGT, propiciando índices maiores de seletividade. Todavia, estudos de compatibilidade desse material, com o polímero de formação da membrana, devem ser cuidadosamente conduzidos. A amostragem consolidada resultou na aprovação de um segundo projeto de pesquisa, com fomento financeiro e que, no momento, estão sendo conduzidos pelo grupo de pesquisa.

Referências Bibliográficas

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Fernández-Ramos, C.; Šatínský, D.; Šmídová, B.; Solich, P. Analysis of Trace Organic Compounds in Environmental, Food and Biological Matrices Using Large-Volume Sample Injection in Column-Switching Liquid Chromatography. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2014**, *62*, 69–85. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.07.008>.
- (2) Tran, N. H.; Reinhard, M.; Gin, K. Y. H. Occurrence and Fate of Emerging Contaminants in Municipal Wastewater Treatment Plants from Different Geographical Regions-a Review. *Water Res.* **2018**, *133*, 182–207. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.029>.
- (3) Santana, J. S.; Sampaio, T. R. Seasonal and Spatial Distribution of Caffeine, Atrazine, Atenolol and DEET in Surface and Drinking Waters from the Brazilian Federal District. *J. Braz. Chem. Soc.* **2018**, *29* (9), 1854–1865.
- (4) Canela, M. C.; Jardim, W. F.; Sodr e, F. F.; Grassi, M. T. *Cafeína Em  guas de Abastecimento P blico No Brasil*; Cubo, E., Ed.; S o Carlo, 2014.
- (5) Jardim, W. F.; Montagner, C. C.; Pescara, I. C.; Umbuzeiro, G. A.; Di Dea Bergamasco, A. M.; Eldridge, M. L.; Sodr e, F. F. An Integrated Approach to Evaluate Emerging Contaminants in Drinking Water. *Sep. Purif. Technol.* **2012**, *84*, 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.06.020>.
- (6) Machado, K. C.; Grassi, M. T.; Vidal, C.; Pescara, I. C.; Jardim, W. F.; Fernandes, A. N.; Sodr e, 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.210>.
- (7) Rodriguez-Narvaez, O. M.; Peralta-Hernandez, J. M.; Goonetilleke, A.; Bandala, E. R. Treatment Technologies for Emerging Contaminants in Water: A Review. *Chem. Eng. J.* **2017**, *323*, 361–380. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.04.106>.
- (8) Noguera-Oviedo, K.; Aga, D. S. Lessons Learned from More than Two Decades of Research on Emerging Contaminants in the Environment. *J. Hazard. Mater.* **2016**, *316*, 242–251. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.058>.
- (9) Campanha, M. B.; Awan, A. T.; de Sousa, D. N. R.; Grosseli, G. M.; Mozeto, A. A.; Fadini, P. S. A 3-Year Study on Occurrence of Emerging Contaminants in an Urban Stream of S o Paulo State of Southeast Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, *22* (10), 7936–7947. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3929-x>.
- (10) Maria, Carlos A B De, Moreira, R. F. A. Cafeína: revis o sobre m todos de an lise. **2007**, *30* (1), 99–105.
- (11) K. Fremielle Lim and Clovia I. Holdsworth. Effect of Formulation on the Binding Efficiency and Selectivity of Precipitation Molecularly Imprinted Polymers. *Molecules* **2018**, *23*, 1–19. <https://doi.org/10.3390/molecules23112996>.
- (12) Baldim, I. M.; De Oliveira Souza, M. C.; Da Cunha Souza, J. C. J.; Figueiredo, E. C.; Martins, I. Application of the Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction to the Organophosphate Residues Determination in Strawberries. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *404* (6–7), 1959–1966. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6327-6>.
- (13) 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. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.073>.
- (14) Farr e, M. I.; P rez, S.; Kantiani, L.; Barcel , D. Fate and Toxicity of Emerging Pollutants, Their Metabolites and Transformation Products in the Aquatic Environment. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2008**, *27* (11), 991–1007. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.010>.
- (15) Vasquez, M. I.; Lambrianides, A.; Schneider, M.; K mmerer, K.; Fatta-Kassinos, D. Environmental Side Effects of Pharmaceutical Cocktails: What We Know and What We Should Know. *J. Hazard. Mater.* **2014**, *279*, 169–189. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.06.069>.
- (16) Montagner, C. C.; Vidal, C.; Acayaba, R. D. Contaminantes Emergentes Em Matrizes Aqu ticas Do Brasil: Cen rio Atual e Aspectos Anal ticos, Ecotoxicol gicos e Regulat rios. *Quim. Nova* **2017**, *40* (9), 1094–1110. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170091>.
- (17) Montagner, C. C.; Umbuzeiro, G. a; Pasquini, C.; Jardim, W. F. Caffeine as an Indicator of Estrogenic Activity in Source Water. *Environ. Sci. Process. Impacts* **2014**, *16* (8), 10–13. <https://doi.org/10.1039/c4em00058g>.

- (18) Chen, L.; Xu, S.; Li, J. Recent Advances in Molecular Imprinting Technology: Current Status, Challenges and Highlighted Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (5), 2922–2942. <https://doi.org/10.1039/C0CS00084A>.
- (19) SNIS. ConsolidadoMunicípio--2018-05-17--10-32-38. 2018.
- (20) Paíga, P.; Delerue-matos, C. Paíga & Delerue-Matos. *Mar. Pollut. Bull.* **2017**, *120* (1–2), 355–363. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.05.030>.
- (21) Raimundo, C. M. Contaminantes Emergentes Em Água Tratada e Seus Mananciais: Sazonalidade, Remoção e Atividade Estrogênica. *Univ. Estadual Campinas, Inst. Química* **2011**, 203. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2016.08.021>.
- (22) Gracia-Lor, E.; Rousis, N. I.; Zuccato, E.; Bade, R.; Baz-Lomba, J. A.; Castrignanò, E.; Causanilles, A.; Hernández, F.; Kasprzyk-Hordern, B.; Kinyua, J.; et al. Estimation of Caffeine Intake from Analysis of Caffeine Metabolites in Wastewater. *Sci. Total Environ.* **2017**, *609* (July), 1582–1588. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.258>.
- (23) Kumar, V.; Kaur, J.; Panghal, A.; Kaur, S.; Handa, V. Caffeine: A Boon or Bane. *Nutr. Food Sci.* **2018**, *48* (1), 61–75. <https://doi.org/10.1108/NFS-05-2017-0100>.
- (24) Moore, M. T.; Greenway, S. L.; Farris, J. L.; Guerra, B. Assessing Caffeine as an Emerging Environmental Concern Using Conventional Approaches. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2008**, *54* (1), 31–35. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9059-4>.
- (25) Linden, R.; Antunes, M. V.; Heinzelmann, L. S.; Fleck, J. D.; Staggemeier, R.; Fabres, R. B.; Vecchia, A. D.; Nascimento, C. A.; Spilki, F. R. Caffeine as an Indicator of Human Fecal Contamination in the Sinos River: A Preliminary Study. *Braz. J. Biol.* **2015**, *75* (2 Suppl), 81–84. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.0513>.
- (26) de Jesus Gaffney, V.; Almeida, C. M. M.; Rodrigues, A.; Ferreira, E.; Benoliel, M. J.; Cardoso, V. V. Occurrence of Pharmaceuticals in a Water Supply System and Related Human Health Risk Assessment. *Water Res.* **2015**, *72*, 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.027>.
- (27) Davies, S.; Lee, T.; Ramsey, J.; Dargan, P. I.; Wood, D. M. Risk of Caffeine Toxicity Associated with the Use of “legal Highs” (Novel Psychoactive Substances). *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2012**, *68* (4), 435–439. <https://doi.org/10.1007/s00228-011-1144-y>.
- (28) Rodrigues, S. V. The Use of Caffeine as a Chemical Marker of Domestic Wastewater Contamination in Surface Waters : Seasonal and Spatial Variations in O Uso Da Cafeína Como Marcador Químico de Contaminação Por Esgoto Doméstico Em Águas Superficiais : Variações Sazonais e E. *Ambient. Água - An Interdiscip. J. Appl. Sci.* **2016**, *12*. <https://doi.org/10.4136/1980-993X>.
- (29) Hillebrand, O.; No, K.; Licha, T.; Sauter, M.; Geyer, T. Caffeine as an Indicator for the Quantification of Untreated Wastewater in Karst Systems. **2011**, *6*, 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.003>.
- (30) Liang, L.; Goh, S. G.; Vergara, G. G. R. V.; Fang, H. M.; Rezaeinejad, S.; Chang, S. Y.; Bayen, S.; Lee, W. A.; Sobsey, M. D. Alternative Fecal Indicators and Their Empirical Relationships with Enteric Viruses , Salmonella Enterica , and Pseudomonas Aeruginosa in Surface Waters of a Tropical Urban Catchment. **2015**, *81* (3), 850–860. <https://doi.org/10.1128/AEM.02670-14>.
- (31) R.T. Cain, M. J.R. Clark, N. R.; Zorkin. Trace Organic Constituents in Discharges. Background Report to the Fraser River Estuary Study of the Fraser River Estuary Study Steering Committee, Government of British Columbia 1980, p 56.
- (32) Gardinali, P. R.; Zhao, X. Trace Determination of Caffeine in Surface Water Samples by Liquid Chromatography–Atmospheric Pressure Chemical Ionization–Mass Spectrometry (LC–APCI–MS). *Environ. Int.* **2002**, *28* (6), 521–528. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(02\)00080-6](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00080-6).
- (33) Ma, R.; Wang, B.; Yin, L.; Zhang, Y.; Deng, S.; Huang, J.; Wang, Y.; Yu, G. Characterization of Pharmaceutically Active Compounds in Beijing, China: Occurrence Pattern, Spatiotemporal Distribution and Its Environmental Implication. *J. Hazard. Mater.* **2017**, *323*, 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.030>.
- (34) Komori, K.; Suzuki, Y.; Minamiyama, M.; Harada, A. Occurrence of Selected Pharmaceuticals in River Water in Japan and Assessment of Their Environmental Risk. *Environ. Monit. Assess.* **2013**, *185* (6), 4529–4536. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2886-4>.
- (35) Silva, C. P.; Lima, D. L. D.; Schneider, R. J.; Otero, M.; Esteves, V. I. Evaluation of the Anthropogenic Input of Caffeine in Surface Waters of the North and Center of Portugal by ELISA. *Sci. Total Environ.* **2014**, *479–480* (1), 227–232.

- <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.120>.
- (36) Kwon, J. C.; Nejad, Z. D.; Jung, M. C. Arsenic and Heavy Metals in Paddy Soil and Polished Rice Contaminated by Mining Activities in Korea. *Catena* **2016**, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.01.005>.
- (37) Comeau, F.; Surette, C.; Brun, G. L.; Losier, R. The Occurrence of Acidic Drugs and Caffeine in Sewage Effluents and Receiving Waters from Three Coastal Watersheds in Atlantic Canada. *Sci. Total Environ.* **2008**, 396 (2–3), 132–146. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.02.031>.
- (38) Su, C.; Jiang, L.; Zhang, W. A Review on Heavy Metal Contamination in the Soil Worldwide : Situation , Impact and Remediation Techniques. **2014**, 3 (2), 24–38.
- (39) Dong, Y.; He, L. F.; Zhang, X. H.; Jiang, X. R.; Science, M. Preparation and properties of caffeine molecular composite imprinted membranes. *Dig. J. Nanomater. Bioestructures* **2016**, 11 (4), 1319–1326. <https://doi.org/11.1319-1326>.
- (40) Richardson, S. D.; Kimura, S. Y. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.* **2016**, 88 (Table 1), 546–582. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04493>.
- (41) Martín-Esteban, A. Molecularly-Imprinted Polymers as a Versatile, Highly Selective Tool in Sample Preparation. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2013**, 45 (1), 169–170. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.023>.
- (42) Sodré, F. F.; E, M. A. F. L.; Raquel, J. Sistema limpo em linha para extração em fase sólida de contaminantes emergentes em águas naturais. **2010**, 33 (9), 216–219.
- (43) Dourado, C. S.; Dra, P.; Cristi, A.; Dias, B. Polímeros Molecularmente Impressos Para Extração Seletiva de Sacarina e Triclosan Polímeros Molecularmente Impressos Para Extração Seletiva de Sacarina e Triclosan. **2019**.
- (44) Bolt, G. H.; Bruggenwert, M. G. M. *Soil Chemistry A. Basic Elements*, 2^a.; Elsevier Scientific Publishers B.V.: New York, 1978.
- (45) Spoelstra, J.; Schiff, S. L.; Brown, S. J. Artificial Sweeteners in a Large Canadian River Reflect Human Consumption in the Watershed. *PLoS One* **2013**, 8 (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082706>.
- (46) Richardson, S. D.; Ternes, T. A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.* **2018**, 90 (1), 398–428. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04577>.
- (47) Sangi, M. R.; Halstead, M. J.; Hunter, K. A. Use of the Diffusion Gradient Thin Film Method to Measure Trace Metals in Fresh Waters at Low Ionic Strength. *Anal. Chim. Acta* **2002**, 456, 241–251.
- (48) Peixoto, P. S.; Tóth, I. V.; Barreiros, L.; Machado, A.; Adriano, A.; Lima, J. L. F. C.; Segundo, M. A.; Peixoto, P. S.; Tóth, I. V.; Barreiros, L.; et al. Screening of Fluoroquinolones in Environmental Waters Using Disk-Based Solid-Phase Extraction Combined to Microplate Fluorimetric Determination and LC-MS / MS. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2019**, 99 (3), 258–269. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1588969>.
- (49) Cole, R. F.; Mills, G. A.; Hale, M. S.; Parker, R.; Bolam, T.; Teasdale, P. R.; Bennett, W. W.; Fones, G. R. Development and Evaluation of a New Diffusive Gradients in Thin-Films Technique for Measuring Organotin Compounds in Coastal Sediment Pore Water. *Talanta* **2018**, 178 (May 2017), 670–678. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.081>.
- (50) Chen, C. E.; Zhang, H.; Jones, K. C. A Novel Passive Water Sampler for in Situ Sampling of Antibiotics. *J. Environ. Monit.* **2012**, 14 (6), 1523–1530. <https://doi.org/10.1039/c2em30091e>.
- (51) Challis, J. K.; Hanson, M. L.; Wong, C. S. Development and Calibration of an Organic-Diffusive Gradients in Thin Films Aquatic Passive Sampler for a Diverse Suite of Polar Organic Contaminants. *Anal. Chem.* **2016**, 88, 10583–10591. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b02749>.
- (52) Zhang, H.; Davison, W.; Miller, S.; Tych, W. In Situ High Resolution Measurements of Fluxes of Ni, Cu, Fe, and Mn and Concentrations of Zn and Cd in Porewaters by DGT. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1995**, 59 (20), 4181–4192. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(95\)00293-9](https://doi.org/10.1016/0016-7037(95)00293-9).
- (53) Davison, W.; Zhang, H. In Situ Speciation Measurements of Trace Components in Natural Waters Using Thin-Film Gels. *Nature* **1994**, 367 (6463), 546–548.
- (54) Zhang, H.; Davison, W. Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. **1995**, 67 (19), 3391–3400. <https://doi.org/10.1021/ac00115a005>.

- (55) Anjos, V. E. dos; Abate, G.; Grassi, M. T. Brazilian Journal of Analytical Chemistry. **2011**, No. April.
- (56) Zou, Y. T.; Fang, Z.; Li, Y.; Wang, R.; Zhang, H.; Jones, K. C.; Cui, X. Y.; Shi, X. Y.; Yin, D.; Li, C.; et al. Novel Method for in Situ Monitoring of Organophosphorus Flame Retardants in Waters. *Anal. Chem.* **2018**, *90* (16), 10016–10023. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b02480>.
- (57) Guo, C.; Zhang, T.; Hou, S.; Lv, J.; Zhang, Y.; Wu, F.; Hua, Z.; Meng, W.; Zhang, H.; Xu, J. Investigation and Application of a New Passive Sampling Technique for in Situ Monitoring of Illicit Drugs in Waste Waters and Rivers. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, *51* (16), 9101–9108. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00731>.
- (58) Chen, C. E.; Zhang, H.; Ying, G. G.; Jones, K. C. Evidence and Recommendations to Support the Use of a Novel Passive Water Sampler to Quantify Antibiotics in Wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, *47* (23), 13587–13593. <https://doi.org/10.1021/es402662g>.
- (59) Chen, W.; Li, Y.; Chen, C.; Sweetman, A. J.; Zhang, H.; Jones, K. C. DGT Passive Sampling for Quantitative in Situ Measurements of Compounds from Household and Personal Care Products in Waters. **2017**, 13274–13281. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03940>.
- (60) 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. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.03.015>.
- (61) Murray, A.; Örmeci, B. Application of Molecularly Imprinted and Non-Imprinted Polymers for Removal of Emerging Contaminants in Water and Wastewater Treatment: A Review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2012**, *19* (9), 3820–3830. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1119-2>.
- (62) Yanan Li, Yongxia Xu, Hong Chen, J. L. Molecularly Imprinted Polymer Based Diffusive Gradients in Thin-Films for in Situ Selective Sampling and Determination of Ciprofloxacin. *Journal Sep. Sci.* **2018**, *41* (20), 3946–3952. <https://doi.org/10.1002/jssc.201800649>.
- (63) DICKEY, F. H. No Title The Preparation of Specific Adsorbents. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1949**, *35*, 227–229.
- (64) WULF, G.; SARHAN, A. U. Use of Polymers with Enzyme Analogous Structures for the Resolution of Racemates. *Angew. Chemie* **1972**, *11*, 341–344.
- (65) Tarley, C. R. T.; Sotomayor, M. D. P. T.; Kubota, L. T. POLÍMEROS BIOMIMÉTICOS EM QUÍMICA ANALÍTICA. PARTE 1: PREPARO E APLICAÇÕES DE MIP (“MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS”) EM TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E SEPARAÇÃO. *Quim. Nov.* **2005**, *28* (6), 1076–1086.
- (66) Da Mata, K.; Corazza, M. Z.; De Oliveira, F. M.; De Toffoli, A. L.; Teixeira Tarley, C. R.; Moreira, A. B. 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. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.07.004>.
- (67) Turiel, E.; Martín-Esteban, A. Molecularly Imprinted Polymers for Sample Preparation: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *668* (2), 87–99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.019>.
- (68) Kumar, A.; Gaurav; Malik, A. K.; Tewary, D. K.; Singh, B. A Review on Development of Solid Phase Microextraction Fibers by Sol-Gel Methods and Their Applications. *Anal. Chim. Acta* **2008**, *610* (1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.028>.
- (69) Figueiredo, L.; Erny, G. L.; Santos, L.; Alves, A. Applications of Molecularly Imprinted Polymers to the Analysis and Removal of Personal Care Products: A Review. *Talanta* **2016**, *146*, 754–765. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.027>.
- (70) Lin, C. I.; Joseph, A. K.; Chang, C. K.; Wang, Y. C.; Lee, Y. Der. Synthesis of Molecularly Imprinted Organic-Inorganic Hybrid Polymer Binding Caffeine. *Anal. Chim. Acta* **2003**, *481* (2), 175–180. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00095-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00095-3).
- (71) 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* (November 2016), 606–615. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.018>.
- (72) Masini, J. C.; Svec, F. Porous Monoliths for On-Line Sample Preparation: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2017**, *964*, 24–44. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.02.002>.
- (73) Speltini, A.; Scalabrini, A.; Maraschi, F.; Sturini, M.; Profumo, A. Newest Applications of Molecularly Imprinted Polymers for Extraction of Contaminants from Environmental and

- Food Matrices: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2017**, *974*, 1–26. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.04.042>.
- (74) Bitas, D.; Samanidou, V. Molecularly Imprinted Polymers as Extracting Media for the Chromatographic Determination of Antibiotics in Milk. *Molecules* **2018**, *23* (2), 4–6. <https://doi.org/10.3390/molecules23020316>.
- (75) ARSHADY, R (ARSHADY, R); MOSBACH, K (MOSBACH, K. Synthesis of Substrate-selective Polymers by Host-guest Polymerization. *Macromol. Chem. PHYSICS-MAKROMOLEKULARE CHEMIE* **1981**, *182*, 687–692.
- (76) Analítica, Q. Aspectos Ecológicos Na Tecnologia de Impressão Molecular : Do Design Às Aplicações Ambientais. **2018**, 1–31.
- (77) Madikizela, L. M.; Tavengwa, N. T.; Chimuka, L. Applications of Molecularly Imprinted Polymers for Solid-Phase Extraction of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Analgesics from Environmental Waters and Biological Samples. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2018**, *147*, 624–633. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.04.010>.
- (78) Vieira, A. C.; Zampieri, R. A.; de Siqueira, M. E. P. B.; Martins, I.; Figueiredo, E. C. Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection for the Determination of Urinary Trans,Trans-Muconic Acid: A Comparison with Ionic Exchange Extraction. *Analyst* **2012**, *137* (10), 2462. <https://doi.org/10.1039/c2an16215f>.
- (79) Sousa, M. D.; Barbosa, C. M. Polímeros Com Capacidade de Reconhecimento Molecular No Controlo Da Libertação de Fármacos. Parte 1: Díntese e Caracterização. *Quim. Nova* **2009**, *32* (6), 1609–1619. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600045>.
- (80) Gama, M. R.; Bottoli, C. B. G. Molecularly Imprinted Polymers for Bioanalytical Sample Preparation. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2017**, *1043*, 107–121. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.09.045>.
- (81) Lee, S. C.; Peng, C. L.; Chen, H. Studies on the Preparation and Properties of Sol-Gel Molecularly Imprinted Polymer Based on Tetramethoxysilane and Methyltrimethoxysilane for Recognized Sulfonamides. *Polym. J. (Tokyo, Japan)* **2009**, *41* (300), 1092–1097. [https://doi.org/DOI 10.1295/polymj.PJ2009147](https://doi.org/DOI%2010.1295/polymj.PJ2009147).
- (82) Ciriminna, R.; Fidalgo, A.; Pandarus, V.; Béland, F.; Ilharco, L. M.; Pagliaro, M. The Sol-Gel Route to Advanced Silica-Based Materials and Recent Applications. *Chem. Rev.* **2013**, *113* (8), 6592–6620. <https://doi.org/10.1021/cr300399c>.
- (83) José, N. M.; Sanchez De Almeida Prado, L. A. Materiais Híbridos Orgânico-Inorgânicos: Preparação e Algumas Aplicações. *Quim. Nova* **2005**, *28* (2), 281–288. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000200020>.
- (84) Benvenutti, E. V.; Moro, C. C.; Costa, T. M. H.; Gallas, M. R. Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. *Quim. Nova* **2009**, *32* (7), 1926–1933. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000700039>.
- (85) Samanidou, V.; Kehagia, M.; Kabir, A.; Furton, K. G. Matrix Molecularly Imprinted Mesoporous Sol-Gel Sorbent for Efficient Solid-Phase Extraction of Chloramphenicol from Milk. *Anal. Chim. Acta* **2016**, *914*, 62–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.02.003>.
- (86) Ansari, S.; Karimi, M. Recent Progress, Challenges and Trends in Trace Determination of Drug Analysis Using Molecularly Imprinted Solid-Phase Microextraction Technology. *Talanta* **2016**, *164* (November), 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.11.007>.
- (87) Chrzanowska, A. M.; Poliwoda, A.; Wieczorek, P. P. Surface Molecularly Imprinted Silica for Selective Solid-Phase Extraction of Biochanin A, Daidzein and Genistein from Urine Samples. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1392*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.03.015>.
- (88) Abd Rahim, M.; Wan Ibrahim, W. A.; Ramli, Z.; Sanagi, M. M.; Aboul-Enein, H. Y. New Sol-Gel Hybrid Material in Solid Phase Extraction Combined with Liquid Chromatography for the Determination of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Water Samples. *Chromatographia* **2016**, *79* (7–8), 421–429. <https://doi.org/10.1007/s10337-016-3059-3>.
- (89) Yu, D.; Hu, X.; Wei, S.; Wang, Q.; He, C.; Liu, S. Dummy Molecularly Imprinted Mesoporous Silica Prepared by Hybrid Imprinting Method for Solid-Phase Extraction of Bisphenol A. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1396*, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.04.006>.
- (90) Hu, X.; Wu, X.; Yang, F.; Wang, Q.; He, C.; Liu, S. Novel Surface Dummy Molecularly Imprinted Silica as Sorbent for Solid-Phase Extraction of Bisphenol A from Water Samples. *Talanta* **2016**, *148*, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.057>.
- (91) Beyazit, S.; Tse Sum Bui, B.; Haupt, K.; Gonzato, C. Molecularly Imprinted Polymer

- Nanomaterials and Nanocomposites by Controlled/Living Radical Polymerization. *Prog. Polym. Sci.* **2016**, *62*, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2016.04.001>.
- (92) 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. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.011>.
- (93) Rezaei, B.; Khalili Boroujeni, M.; Ensafi, A. A. Caffeine Electrochemical Sensor Using Imprinted Film as Recognition Element Based on Polypyrrole, Sol-Gel, and Gold Nanoparticles Hybrid Nanocomposite Modified Pencil Graphite Electrode. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *60*, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.03.028>.
- (94) Wei, H. Sen; Tsai, Y. L.; Wu, J. Y.; Chen, H. Preparation of Inorganic Molecularly Imprinted Polymers with Higher Adsorption and Selectivity by Sol-Gel Method. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2006**, *836* (1–2), 57–62. https://doi.org/10.1007/11758549_8.
- (95) Gill, R. S.; Marquez, M.; Larsen, G. Molecular Imprinting of a Cellulose / Silica Composite with Caffeine and Its Characterization. **2005**, *85*, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2005.06.003>.
- (96) Liu, X.; Sun, N.; Zhu, Q.; Wu, M.; Ye, Y.; Chen, H. Preparation, Characterization and Application of Organic-Inorganic Hybrid Caffeine Imprinted Monolith. *J. Chromatogr. A* **2013**, *1304*, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.06.060>.
- (97) Chen, L.; Wang, X.; Lu, W.; Wu, X.; Li, J. Molecular Imprinting: Perspectives and Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45* (8), 2137–2211. <https://doi.org/10.1039/C6CS00061D>.
- (98) Gro, A. *Theoretical Surface Science : A Microscopic Perspective*, 2nd ed.; Springer, Ed.; Ulm, 2009.
- (99) Wang, N.; Xiao, S.; Su, C. Preparation of Molecularly Imprinted Polymer for Methylene Blue and Study on Its Molecular Recognition Mechanism. *Colloid Polym. Sci.* **2016**, 1305–1314. <https://doi.org/10.1007/s00396-016-3895-6>.
- (100) Dabrowski, A. Adsorption from Theory to Practice &. **2001**, *93*, 1350224.
- (101) Lanza, F.; Sellergren, B. The Application of Molecular Imprinting Technology to Solid Phase Extraction. **2001**, *53* (11), 599–611.
- (102) Nayibe, L.; Saavedra, M.; Eduardo, B.; Baeta, L.; César, M.; Carlos, L.; Oliveira, A. De; Candido, A. Thermodynamic Study of a Magnetic Molecular Imprinted Polymer for Removal of Nitrogenous Pollutant from Gasoline. *Fuel* **2017**, *210* (September), 380–389. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.08.087>.
- (103) Elshafei, G. S.; Nasr, I. N.; Hassan, A. S. M.; Mohammad, S. G. M. Kinetics and Thermodynamics of Adsorption of Cadusafos on Soils. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *172*, 1608–1616. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.08.034>.
- (104) Wambu, E. W.; Muthakia, G. K.; Wa-Thiong, J. K.; Shiundu, P. M. Kinetics and Thermodynamics of Aqueous Cu(II) Adsorption on Heat Regenerated Spent Bleaching Earth. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* **2011**, *25* (2), 181–190. <https://doi.org/10.4314/bcse.v25i2.65857>.
- (105) Debrassi, A.; Claudia, M.; Largura, T.; Rodrigues, A.; Químico-farmacêuticas, N. D. I.; Ciências, C. De. ADSORÇÃO DO CORANTE VERMELHO CONGO POR DERIVADOS DA O-CARBOXIMETILQUITOSANA HIDROFÓBICAMENTE MODIFICADOS. **2011**, *34* (5), 764–770.
- (106) Kumar, K. V.; Sivanesan, S. Pseudo Second Order Kinetic Models for Safranin onto Rice Husk: Comparison of Linear and Non-Linear Regression Analysis. *Process Biochem.* **2006**, *41* (5), 1198–1202. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.11.014>.
- (107) 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. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.03.030>.
- (108) Lopez-Nogueroles, M.; Lordel-Madeleine, S.; Chisvert, A.; Salvador, A.; Pichon, V. Development of a Selective Solid Phase Extraction Method for Nitro Musk Compounds in Environmental Waters Using a Molecularly Imprinted Sorbent. *Talanta* **2013**, *110*, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.02.023>.
- (109) Moreira, K.; Gava, M.; Ricardo, C.; Tarley, T. Reactive & Functional Polymers Synthesis and Adsorption Studies of Novel Hybrid Mesoporous Copolymer Functionalized with Protoporphyrin for Batch and On-Line Solid-Phase Extraction of Cd²⁺ Ions. *React. Funct. Polym.* **2013**, *73* (6), 838–846. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2013.03.017>.

- (110) Nascimento, R. F. do; Lima, A. C. A. de; Vidal, C. B.; Melo, D. de Q.; Raulino, G. S. C. *ADSORÇÃO: As Pectos Teóricos e Aplicações Ambientais*; In: Imprensa Universitária, Ed.; Fortaleza, 2014.
- (111) Casarin, F. *Síntese e Caracterização de Polímeros Molecularmente Impressos Para Determinação de Cafeína Em Águas Superficiais.*, Universidade de Brasília, 2018.
- (112) Casarin, J.; Gonçalves, C.; Gava, M.; Ricardo, C.; Tarley, T. Poly (Methacrylic Acid)/ SiO₂ / Al₂O₃ Based Organic-Inorganic Hybrid Adsorbent for Adsorption of Imazethapyr Herbicide from Aqueous Medium. *React. Funct. Polym.* **2017**, *121* (June), 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2017.10.023>.
- (113) Oliveira, T. F. de; Ribeiro, E. S.; Segatelli, M. G.; Tarley, C. R. T. Enhanced Sorption of Mn²⁺ Ions from Aqueous Medium by Inserting Protoporphyrin as a Pendant Group in Poly(Vinylpyridine) Network. *Chem. Eng. J.* **2013**, *221*, 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.02.008>.
- (114) Vrana, B.; Mills, G. A.; Allan, I. J.; Dominiak, E.; Svensson, K.; Knutsson, J.; Morrison, G.; Greenwood, R. Passive Sampling Techniques for Monitoring Pollutants in Water. *Trends Anal. Chem.* **2005**, *24* (10), 845–868. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.06.006>.
- (115) Zeng, H.; Wang, Y.; Liu, X.; Kong, J.; Nie, C. Preparation of Molecular Imprinted Polymers Using Bi-Functional Monomer and Bi-Crosslinker for Solid-Phase Extraction of Rutin. *Talanta* **2012**, *93*, 172–181. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.02.008>.
- (116) Manzoor, S.; Rossi, A. V.; Buffon, R. A New Synthetic Route to Molecularly Imprinted ORMOSIL: Characterization and Evaluation. *Sep. Sci. Technol.* **2018**, *53* (6), 877–886. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1407341>.
- (117) Neto, B. de B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E. *Como Fazer Experimentos Pesquisa e Desenvolvimento Na Ciência e Na Indústria*, 4ed ed.; Bookman, Ed.; Porto Alegre, 2010.
- (118) Zhi, K.; Wang, L.; Zhang, Y.; Jiang, Y.; Zhang, L. Influence of Size and Shape of Silica Supports on the Sol – Gel Surface Molecularly Imprinted Polymers for Selective Adsorption of Gossypol. **2018**, 1–16. <https://doi.org/10.3390/ma11050777>.
- (119) Yang, J.; Li, Y.; Wang, J.; Sun, X.; Shah, S. M.; Cao, R.; Chen, J. Novel Sponge-like Molecularly Imprinted Mesoporous Silica Material for Selective Isolation of Bisphenol A and Its Analogues from Sediment Extracts. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *853* (1), 311–319. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.09.051>.
- (120) Jin, G.; Tang, Y. Evaluation of a Novel Silica-Supported Sol-Gel Sorbent Prepared by a Surface Molecular Imprinting Technique for the Selective Separation of Estazolam from Human Plasma. *Microchim. Acta* **2009**, *165* (1–2), 143–149. <https://doi.org/10.1007/s00604-008-0112-4>.
- (121) Phutthawong, N.; Pattarawarapan, M. Synthesis of Highly Selective Spherical Caffeine Imprinted Polymers via Ultrasound-Assisted Precipitation Polymerization. *J. da ciência Apl. do polímero* **2013**, 3893–3899. <https://doi.org/10.1002/app.38596>.
- (122) Luo, X.; Dong, R.; Luo, S.; Zhan, Y.; Tu, X.; Yang, L. Preparation of Water-Compatible Molecularly Imprinted Polymers for Caffeine with a Novel Ionic Liquid as a Functional Monomer. *Appl. Polym.* **2013**, 2884–2890. <https://doi.org/10.1002/app.36792>.
- (123) Zhou, Y.; Xiong, L.; Lu, F. Synthesis and Properties of Caffeine Molecularly Imprinted Polymers Based on Konjac Glucomannan. *Adv. Polym. Technol.* **2015**, *36* (1), 1–9. <https://doi.org/10.1002/adv.21575>.
- (124) 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. <https://doi.org/10.1021/ac0105686>.
- (125) ANVISA. Este Texto Não Substitui o(s) Publicado(s) Em Diário Oficial Da União. *RE Nº 899, 29 MAIO 2003* **2003**, 2003.
- (126) Bielicka-daszkiwicz, K.; Voelkel, A. Theoretical and Experimental Methods of Determination of the Breakthrough Volume of SPE Sorbents. *Talanta* **2009**, *d*, 614–621. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.07.037>.
- (127) Santos, M. G.; Abrão, L. C. D. C.; Freitas, L. A. D. S.; Moraes, G. D. O. I.; Lima, M. M. De; Figueiredo, E. C. Emprego de Polímeros de Impressão Molecular Em Preparo de Amostras Para Análise de Compostos Orgânicos: Aplicações e Tendências. *Sci. Chromatogr.* **2012**, *4* (3), 161–195. <https://doi.org/10.4322/sc.2012.012>.
- (128) Ayankojo, A. G.; Reut, J.; Öpik, A.; Furchner, A.; Syritski, V. Hybrid Molecularly Imprinted Polymer for Amoxicillin Detection. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, *118*, 102–107. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2018.07.042>.
- (129) Lv, Y.-K.; Wang, L.-M.; Yang, L.; Zhao, C.-X.; Sun, H.-W. Synthesis and Application of

- Molecularly Imprinted Poly(Methacrylic Acid)–Silica Hybrid Composite Material for Selective Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography Determination of Oxytetracycline Residues in Milk. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1227*, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.108>.
- (130) 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. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.045>.
- (131) Rieuwerts, J. S.; Thornton, I.; Farago, M. E.; Ashmore, M. R.; Rieuwerts, J. S.; Thornton, I.; Farago, M. E.; Ashmore, M. R. Factors Influencing Metal Bioavailability in Soils: Preliminary Investigations for the Development of a Critical Loads Approach for Metals Factors Influencing Metal Bioavailability in Soils: Preliminary Investigations for the Development of A. **2015**, *2299* (May 2016). <https://doi.org/10.3184/095422998782775835>.
- (132) Silva, R. G. da C. *Materiais Sorventes Impressos Molecularmente Preparados Por Processos Sol-Gel*, 2009.
- (133) Oliveira, D.; Freitas, A.; Kadhirvel, P.; Dias, R. C. S.; Costa, M. R. P. F. N. Development of High Performance and Facile to Pack Molecularly Imprinted Particles for Aqueous Applications. *Biochem. Eng. J.* **2016**, *111*, 87–99. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.03.009>.
- (134) Huang, G.; Chen, Z.; Wang, J.; Sun, J.; Liu, J.; Zhang, Y. Adsorption of Arsenite onto a Soil Irrigated by Sewage. *J. Geochemical Explor.* **2013**, *132*, 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.06.015>.
- (135) Challis, J. K.; Stroski, K. M.; Luong, K. H.; Hanson, M. L.; Wong, C. S. Field Evaluation and in Situ Stress Testing of the Organic-Diffusive Gradients in Thin-Films Passive Sampler. *Environ. Sci. Technol.* **2018**, *52*, 12573–12582. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03622>.
- (136) Bereli, N.; Andaç, M.; Baydemir, G.; Say, R.; Galaev, I. Y.; Denizli, A. Protein Recognition via Ion-Coordinated Molecularly Imprinted Supermacroporous Cryogels. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1190* (1–2), 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.02.110>.
- (137) Grassi, V. *Polímeros Molecularmente Impressos (MIPs) Como Extratores Em Fase Sólida Em Sistemas de Análises Em Fluxo*, 2008.
- (138) Adjei, A.; Newburger, J.; Martin, A. Extended Hildebrand Approach: Solubility of Caffeine in Dioxane–Water Mixtures. *J. Pharm. Sci.* **1980**, *69* (6), 659–661. <https://doi.org/10.1002/jps.2600690613>.
- (139) Mt, C.; Oliveira, A. P. De; Nogueira, R. F. P. Avaliação dos parâmetros de solubilidade de hildebrand/hansen na seleção de solventes para a extração de pesticidas organoclorados do solo. *Quim. Nov.* **2011**, *34* (9), 1501–1506.
- (140) Guibal, R.; Buzier, R.; Charriau, A.; Lissalde, S.; Guibaud, G. Passive Sampling of Anionic Pesticides Using the Diffusive Gradients in Thin Films Technique (DGT). *Anal. Chim. Acta* **2017**, *966*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.02.007>.
- (141) Tiago Wacheski; Orientador : Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi. Amostradores o-DGT para a determinação de Contaminantes Emergentes em Matrizes. *Univ. Fed. Do Paraná* **2017**.