



Universidade Estadual Paulista
Instituto de Química - Araraquara



Pedro Henrique Pradela Chimello

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE POLÍMERO MOLECULARMENTE
IMPRESSO PARA DETERMINAÇÃO DO CORANTE TARTRAZINA VISANDO
DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE NOVOS SENSORES BIOMIMÉTICOS
COM TRANSDUÇÃO ÓPTICA**

**ARARAQUARA
2017**

PEDRO HENRIQUE PRADELA CHIMELLO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE POLÍMERO MOLECULARMENTE
IMPRESSO PARA DETERMINAÇÃO DO CORANTE TARTRAZINA VISANDO
DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE NOVOS SENSORES BIOMIMÉTICOS
COM TRANSDUÇÃO ÓPTICA**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Biotecnologia do Instituto de Química, UNESP, Araraquara como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria del Pilar Taboada Sotomayor
Coorientador: Dr. Marcos Vinicius Foguel

ARARAQUARA

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

C532s Chimello, Pedro Henrique Pradela
Síntese e caracterização de polímero molecularmente
impresso para determinação do corante Tartrazina visando
desenvolvimento e aplicação de novos sensores biomiméticos
com transdução óptica / Pedro Henrique Pradela Chimello. –
Araraquara : [s.n.], 2017
80 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Maria del Pilar Taboada Sotomayor
Coorientador: Marcos Vinicius Foguel

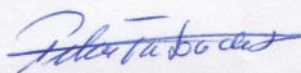
1. Corantes em alimentos. 2. Polímeros impressos.
3. Biossensores. 4. Fibras ópticas. 5. Reflectância. I. Título.

PEDRO HENRIQUE PRADELA CHIMELLO

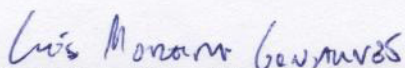
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Araraquara, 21 de junho de 2017.

BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Maria del Pilar Taboada Sotomayor (Orientadora)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof. Dr. Luis Francisco Moreira Gonçalves
Faculdade de Ciências / Universidade do Porto / Portugal

Profª Drª Rosa Amália Fireman Dutra
Universidade Federal do Pernambuco / UFPE / Recife - PE

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Marlene Pradela e Jailton Chimello, que são a razão do meu viver e da minha existência. A minha querida noiva Camila Santana pelo amor e suporte nessa caminhada.

*“Podem morrer as pessoas,
mas nunca suas ideias.”*

(Che Guevara)

*“Nas grandes batalhas da vida,
o primeiro passo para a vitória é
o desejo de vencer.”*

(Mahatma Gandhi)

*“A menos que modifiquemos a nossa maneira de
pensar, não seremos capazes de resolver os
problemas causados pela forma como nos
acostumamos a ver o mundo.”*

(Albert Einstein)

*“O mais competente não discute,
domina a sua ciência e cala-se.”*

(Voltaire)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir ingressar em uma das melhores Universidades do país e por me ajudar a suportar os momentos mais difíceis que passei em Araraquara.

Aos meus pais, Marlene Pradela e Jailton Chimello por todos os ensinamentos e por serem a minha principal referência de ética, conduta e moral; características essas que fizeram de mim quem sou. Obrigado por todos os ensinamentos e por sempre estarem comigo nos momentos mais caóticos. Amo vocês incondicionalmente.

À Prof.^a Dr.^a Maria Del Pilar Taboada Sotomayor pela oportunidade de executar esse mestrado com sucesso e, principalmente, pelos ensinamentos profissionais e pessoais passados ao decorrer desses dois anos.

Ao meu coorientador Marcos Vinicius Foguel por toda paciência que teve comigo ao longo dessa batalha e, principalmente, por me fazer enxergar coisas que jamais poderia ver sozinho.

A minha querida e amada noiva Camila Santana por estar comigo todo tempo e por ser o símbolo de força e amor maior em minha vida. Te amo.

A todos os funcionários e técnicos do Instituto de Química que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho, em especial Juninho da Manutenção por sempre ser leal e um grande amigo em minha vida.

Aos integrantes do GEAr pela amizade, colaboração e, principalmente, pela descontração em momentos difíceis, seja no café ou até mesmo na nossa grande liga do Cartola FC: Juliano Carvalho, Felipe Hudari, Guilherme Bessegato; além de outros que levarei comigo pro resto da vida como: Lucas Silva, Glaucia Tinoco, Fernanda, Bruna Bergamin, WaSid, Sabir Khan, Shahab Ali, Lucas Neres (Shock) e o João Perini. De verdade, muito obrigado pelo convívio e, principalmente, pelo aprendizado pessoal que vocês me transmitiram.

Aos excepcionais amigos, sinceros e verdadeiros, que fiz durante esses 10 anos em Araraquara. Por todas as reuniões em minha casa, tomando uma cerveja e batendo papos incríveis, por todas as risadas e principalmente pelas palavras mais importantes que sempre levo comigo: companheirismo e lealdade. Em especial: Vitor Calvanese, Felipe Gregorio, André Baldo, Thiago Bego, Renan Boldrin, Evandro Souza, Tarso Ferrari, Rafael Moraes, Rafael Emiliano, Pedro Rafael, Douglas Fabricio, de verdade, muitíssimo obrigado por tudo.

Às funcionárias da Seção Técnica de Pós-Graduação e da Biblioteca por sempre estarem à disposição para ajudar, informar e tirar dúvidas.

Ao Instituto de Química UNESP por toda infraestrutura cedida e por ter feito esse lugar como minha segunda casa.

A CAPES por todo suporte financeiro.

E por todas as pessoas que passaram por minha vida durante minha trajetória acadêmica.

“Aprendi o silêncio com os faladores,
a tolerância com os intolerantes, a bondade
com os maldosos; e, por estranho que pareça,
sou grato a esses professores.”

(Khalil Gibran)

DADOS CURRICULARES

DADOS PESSOAIS

Nome: Pedro Henrique Pradela Chimello

Data de Nascimento: 19 de novembro de 1987

Naturalidade: Franca – SP

Nacionalidade: Brasileiro

Estado Civil: Solteiro

Filiação: Marlene Zucolo Pradela e Jailton Chimello

ENDEREÇO PROFISSIONAL:

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara.

Rua Prof. Francisco Degni, 55 - Quitandinha

14800-060 - Araraquara, SP - Brasil

Telefone: (16) 3301-9740

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO:

2015 – 2017: Mestrado em Biotecnologia (Conceito CAPES: 5) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Título: Síntese e caracterização de polímero molecularmente impresso para determinação do corante Tartrazina visando desenvolvimento e aplicação de novos sensores biomiméticos com transdução óptica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria del Pilar Taboada Sotomayor.

Bolsista da: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

2008 – 2014: Graduação - Licenciatura em Química.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Araraquara, SP, Brasil.

PROJETOS DE PESQUISA:

2013 - 2014: Desenvolvimento do projeto intitulado "Recobrimentos de fosfatos de cálcio pelo método sol-gel em superfície da liga Ti-6Al-4V", colaborando com atividades de pesquisa cabíveis ao projeto realizado sob orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos Guastaldi, PIBIC/Reitoria.

2010 - 2011: Desenvolvimento do projeto "Síntese de nanopartículas de óxidos semicondutores por síntese hidrotérmica assistida por micro-ondas" sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Zaghete Bertochi, PIBIT.

ESTAGIOS EXTRACURRICULARES E OUTRAS ATIVIDADES PROFISSIONAIS:

• Laboratório de Fitoquímica – Instituto de Química, UNESP, Araraquara

Período: fevereiro a dezembro de 2012

Atribuição: Utilização de equipamentos como evaporador rotativo, preparação de colunas *Sephadex LH-20*, colunas de sílicas para extratos vegetais, preparação de soluções para uso cotidiano em laboratório e reposição de solventes, sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Lourdes Campaner dos Santos, IQ, UNESP Araraquara.

• Centro de Ciências de Araraquara

Período: março a dezembro de 2008

Atribuição: Bolsista na modalidade Bolsa de Apoio Acadêmico e Extensão II (BAAE II) no programa Ciência Viva.

ESTÁGIO DOCÊNCIA:

- **Análise Instrumental:** Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Araraquara, Brasil. Supervisoras: Prof^a. Dr^a. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor e Prof^a. Dr^a. Fabiola Manhas Verbi Pereira.

TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS:

XXII Congresso de Iniciação Científica UNESP

Período: 29 a 30 de setembro de 2010.

Apresentação do trabalho intitulado “Fotoluminescência de pós de PZT puro e com adição de PVA como agente de cristalização”.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS, CONGRESSOS, EXPOSIÇÕES E FEIRAS:

X Semana de Ciências Sociais da Faculdade de Ciências e Letras da UNESP Araraquara

Período: 4 de novembro de 2009.

Participação na Mesa redonda “Reforma, cultura e crise política: limites, contribuições e consensos” com duração de 4hs.

VI Evento em Educação em Química - Instituto de Química da UNESP Araraquara

Período: 28 a 31 de agosto de 2008

- Participação no mini-curso “Algumas experiências de sala de aula de química com o uso do computador” com duração de 6hs.

- Participação no mini-curso “Mídias audiovisuais na sala de aula de Química” com duração de 6hs.

Externato Santa Terezinha

Período: 15 de agosto de 2008.

Participação na V Exposição de Profissões e Universidades.

RESUMO

O presente trabalho explora duas diferentes sínteses de polímeros impressos para o corante alimentício Tartrazina: pelo método em *bulk* e por precipitação. Para isso, foram avaliadas sínteses com diferentes monômeros funcionais e proporções molares entre os reagentes empregados para a polimerização. O MIP que apresentou melhor desempenho foi sintetizado pelo método de precipitação e na proporção 1:2:10 de molécula molde (Tartrazina), monômero funcional (acrilamida) e monômero estrutural (*N-N'*-metileno-*bis*-acrilamida), respectivamente. Este MIP-Tartrazina apresentou uma boa porcentagem de religação, em torno de 97%. Em seguida, foi avaliado seu desempenho na adsorção do analito por meio de isotermas de adsorção no intervalo de concentração de 0 a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e os resultados foram satisfatórios, pois a curva obtida para o MIP apresenta um formato de “one site binding”, permitindo obter o valor de constante de associação aparente de $1,6 \times 10^4 \text{ L } \mu\text{mol}^{-1}$. Já com os dados obtidos, incluindo também o NIP, foi calculado o valor do fator de impressão para a concentração de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo de 2,67. Todos estes resultados são atribuídos às cavidades formadas no MIP, que conferem uma alta afinidade e um reconhecimento específico do analito. Comumente a quantidade de analito adsorvido é determinada a partir de análises indiretas da solução remanescente após a ligação do analito ao material adsorvente. Entretanto, podem induzir a erros experimentais e algumas vezes a valores de Q (adsorção do analito) negativos. Assim, neste trabalho é apresentado, pela primeira vez, os resultados obtidos por meio de medições realizadas diretamente no material adsorvente usando o módulo ATR (reflectância total atenuada) junto ao Barreliño. Permitindo introduzir uma nova técnica de caracterização de polímeros molecularmente impressos, mais versátil, direta e real da adsorção da Tartrazina no material adsorvente. Adicionalmente, rotas para imobilização do MIP-Tartrazina sobre fibras ópticas foram avaliadas, visando a construção de um optodo. Para tal, utilizou-se a imobilização via oclusão em fibras de poli(metacrilato de metila) usando Nafion®, que é um copolímero solúveis em álcoois de baixa massa molecular, e *N-N*-dimetilformamida, que é utilizado para dispersar o copolímero. Utilizando uma massa de 6 mg de MIP como fase sensora foram obtidos resultados promissores, que poderão ser explorados em perspectivas futuras para o desenvolvimento de sensores biomiméticos ópticos e aplicados para a determinação do corante Tartrazina em amostras de diferentes matrizes de interesse alimentício. De tudo o exposto, este trabalho mostrou duas vertentes inovadoras para os polímeros impressos, a caracterização por reflectância difusa de sólidos como alternativa viável e mais adequada na obtenção de isotermas de adsorção e o uso de MIP como fase sensora na construção de optodos. Mostrando a viabilidade do material obtido, e a importância biotecnológica deste trabalho para futuras aplicações.

Palavras chave: Tartrazina; MIP; sensores. Optodos. reflectância difusa.

ABSTRACT

The present work investigates two different syntheses of imprinted polymers for the food dye Tartrazine: by bulk and by precipitation methods. For this, syntheses with different functional monomers and molar ratios among the reagents used for the polymerization were evaluated. The MIP presented better performance by precipitation method and the ratio 1:2:10 of template (Tartrazine), functional monomer (acrylamide) and structural monomer (N-N'-methylene-bis-acrylamide), respectively. This MIP-Tartrazine presented a good percentage of rebinding, around 97%. Then, adsorption performance of the analyte was evaluated by adsorption isotherms in the concentration range from 0 to 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and results were satisfactory, since the obtained curve for the MIP presents a "one site binding" form, allowing to obtain the value of apparent association constant of $1.6 \times 10^4 \text{ L } \mu\text{mol}^{-1}$. With the obtained data, including also the NIP, the imprinted factor value was 2.67 for the concentration of 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. All these results can be attributed to the cavities that were formed in the MIP, which provide a high affinity and specific recognition of the analyte. Commonly, the analyte amount which was adsorbed is determined using indirect analysis of the remaining solution after the analyte binding to the adsorbent material. However, experimental errors can be induced and sometime to obtain negative values of Q (adsorption of the analyte). Thus, in this work is presented, for the first time, the results that were obtained by measurements performed directly on the adsorbent material using the diffuse reflectance of solids. This way, a new technique of characterization of molecularly imprinted polymers was introduced, with more versatile, direct and real of the Tartrazine adsorption in the adsorbent material. Additionally, routes for the immobilization of MIP-Tartrazine on optical fibers were evaluated, aiming the construction of an optode. For this, immobilization was used by occlusion in poly(methyl methacrylate) fibers using Nafion® and N-N dimethylformamide. Promising results were obtained using 6 mg of MIP as the sensing phase that could be explored in perspective future for the development of optical biomimetic sensors and applied for the Tartrazine determination in samples of different matrices of alimentary interest. Therefore, this work showed two innovative aspects for the imprinted polymers, the diffuse reflectance characterization of solids as a viable and more adequate alternative for obtaining of adsorption isotherms and the use of MIP as a sensor phase in the construction of optodes. Showing the feasibility of the material that was obtained, and the biotechnological importance of this work for future applications.

Keywords: Tartrazine; MIP; sensors; optodes; diffuse reflectance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tartrazina e suas diferentes matrizes alimentícias encontradas	21
Figura 2 - Estrutura do corante Tartrazina.....	22
Figura 3 - Representação esquemática do processo de impressão molecular.....	27
Figura 4 - Sistema de vídeo barrelino utilizado para medir reflectância em sólidos.	37
Figura 5 - Esquema da imobilização do MIP para o corante BR9 sobre o guia de luz de poliestireno	38
Figura 6 - (1) Espectro de absorção na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante Tartrazina solubilizado em água. (2) Curva analítica referente à absorbância máxima no comprimento de onda 430nm.....	39
Figura 7 - Resultados das simulações realizadas para avaliar a energia da interação entre três diferentes confôrmeros do corante Tartrazina com os 20 monômeros propostos na Tabela 2.....	41
Figura 8 - Espectros de absorção na região UV-Vis das soluções de lavagem do MIP e NIP sintetizado com o monômero ácido metacrílico em diferentes tempos de lavagem.....	43
Figura 9 - Espectros de absorção na região UV-Vis das soluções de lavagem do MIP e NIP sintetizado com o monômero 1- vinil imidazol em diferentes tempos de lavagem.....	44
Figura 10 - Espectro de absorção na região UV-Vis das soluções de lavagem do NIP sintetizado com o monômero acrilonitrila em diferentes tempos de lavagem.....	45
Figura 11 - Porcentagem de ligação do corante Tartrazina ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) nos diversos MIP usando água como solvente.....	47
Figura 12 - Porcentagem de ligação do corante Tartrazina ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) nos diversos MIP usando solução água/ etanol 70:30 (v/v).....	48
Figura 13 - Porcentagem de ligação do corante Tartrazina ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) nos diversos MIP usando solução acetonitrila/água 70:30 (v/v).....	49
Figura 14 - Análise de ligação do corante Tartrazina ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) com o monômero acrilamida pelo método de precipitação em nova proporção estudada 1:2:10 e impregando a água como solvente.....	51

Figura 15 - Isoterma de adsorção do corante Tartrazina para MIP e NIP. Condições experimentais: 8mg de polímero, volume de 1ml e tempo de interação de 2h.....	52
Figura 16 - Espectros de reflectância no intervalo de 200 nm a 800 nm em diferentes concentrações de Tartrazina (1,2,4,8,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) adsorvidas no MIP estudado	53
Figura 17 - Espectros de reflectância no intervalo de 200 nm a 800 nm em diferentes concentrações de Tartrazina (1,2,4,8,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) adsorvidas no NIP estudado.....	55
Figura 18 - Medidas de refletância diretamente no sólido contendo o analito adsorvido em diferentes concentrações para MIP e NIP. Para uma concentração inicial de Tartrazina 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	56
Figura 19 - Aparência das diferentes quantidades de MIP (acima) e NIP (abaixo) registradas no “Barrelino®” utilizando o corante Tartrazina e variando a quantidade de polímero de 1,0 mg mL ⁻¹ a 10 mg mL ⁻¹ , e a massa de polímero empregada para o estudo foi de 1mg.	57
Figura 20 - Perfil da reflectância para os sólidos MIP e NIP em diferentes concentrações de analito (2,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$	58
Figura 21 - Imagens dos sólidos MIP (acima) e NIP (abaixo) medidos no Barrelino® com variação na concentração de corante, 2,5 a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e com massa de polímero de 1mg.....	60
Figura 22 - Medidas referentes ao branco do Barrelino com MIP e NIP puros e lavados.....	62
Figura 23 - Variação de reflectância ao branco entre MIP e NIP puros e lavados..	63
Figura 24 - Espectros de reflectância difusa obtidos para o NIP e MIP respectivamente na adsorção das duas concentrações extremas aqui avaliadas...	64
Figura 25 - Curvas de adsorção em função da concentração de Tartrazina para os polímeros aqui	65
Figura 26 - Isoterma de adsorção para Tartrazina entre MIP e NIP, obtidos indiretamente usando UV/vis.....	66
Figura 27 – Isoterma de adsorção para Tartrazina do MIP ate 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$	67
Figura 28 - Porcentagem de refletância obtida para a fibra óptica modificada com 6 mg de MIP (1); e a respectiva curva analítica da Refletância em função da concentração de analito no intervalo estudado de 3,70 a 33,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (2)	69
Figura 29 - Espectros de reflectância da fibra óptica modificada com 6 mg de NIP	

(1); e a respectiva curva analítica da Reflectância em função da concentração de analito no intervalo estudado de 3,70 a 33,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Métodos de detecção para o corante Tartrazina em diferentes matrizes alimentícias empregadas a partir de seus limites de detecção.....	23
Tabela 2 - Monômeros comumente utilizados na síntese de MIP e escolhidos para realização da simulação computacional.....	33
Tabela 3 - Quantidade usada dos reagentes para a síntese em bulk de MIP para o corante Tartrazina.....	34
Tabela 4 - Quantidade dos reagentes para a síntese pelo método de precipitação de MIP para o corante Tartrazina.....	36
Tabela 5 - Porcentagem de Reflectancia do solido MIP para o corante Tartrazina em diferentes concentrações (1 a 10 μ L ⁻¹) no comprimento de onda de 430nm.....	54
Tabela 6 - Porcentagem de Reflectancia do solido NIP para o corante Tartrazina em diferentes concentrações (1 a 10 μ L ⁻¹) no comprimento de onda de 430nm.....	55
Tabela 7 - Porcentagem de reflectância para MIP e NIP em concentrações mais baixas do corante Tartrazina.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs: Absorbância

ADI: ingestão diária admissível por pessoa

ATR: Reflectância total atenuada

AIBN: 2,2'-azo-bis-(2-metilpropionitrila)

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DMF: N-N dimetilformamida

EGDMA: Etileno-glicol-dimetacrilato

FOP: fibras ópticas poliméricas

FOS: fibra óptica de sílica

JECFA: Joint Expert Committee on Food Additives

KPS: persulfato de potássio

ME: Monômero estrutural

MF: Monômero funcional

MIP: Polímero molecularmente impresso

MM: Molécula molde

NIP: Polímero não-impresso

PLSR: Regressão por mínimos quadrados parciais

PMMA: Poli(metacrilato de metila)

PVA: Poli(vinilalcool)

PVC: Policloreto de vinila

RD: Reflectância difusa

SDS: Dodecil sulfato de potássio

λ : Comprimento de onda

°C: Grau Celsius

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	19
1.1	Corantes sintéticos.....	19
1.2	Tartrazina.....	20
1.3	Sensores e optodos.....	24
1.4	Polímeros molecularmente impressos (MIP).....	26
2.	OBJETIVOS	30
	2.1 OBJETIVO GERAL	30
	2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	30.
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1	Reagentes e Soluções.....	31
3.2	Instrumentação.....	31
3.3	Simulação computacional.....	32
3.4	Síntese do MIP e NIP.....	33
	3.4.1. Síntese em <i>bulk</i>	33
	3.4.2. Método de precipitação.....	35
	3.4.3. Aplicação do modulo de reflectância para sólidos “Barrelino” do Cary 60 UV-vis nos experimentos de adsorção da Tartrazina ao MIP obtido por precipitação.....	36
3.5.	Imobilização de polímeros impressos sobre a superfície da fibra óptica.....	38
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
4.1	Espectro de absorção e curva analítica.....	39
4.2	Síntese de MIP pelo método de “bulk”	40
	4.2.1. Simulação computacional	41
	4.2.2 Remoção da molécula do corante Tartrazina da estrutura do MIP obtido por “bulk”	42
	4.2.3 Estudo de ligação de MIP para o corante Tartrazina através do método em bulk.....	46
4.3	Teste de ligação pelo método precipitação.....	50

4.4	Isoterma de adsorção do corante Tartrazina aos polímeros obtido pelo método de precipitação	51
4.4.1	Reflectância e análise do sólido (precipitado) gerado através do teste de ligação pelo método de precipitação.....	55
4.5	Obtenção da Isoterma de adsorção através do experimento de reflectância em sólidos.....	58
4.6	Teste controle positivo e obtenção da Isoterma de adsorção através do teste de reflectância em sólidos.....	61
4.7	Imobilização do MIP e NIP por oclusão utilizando a fibra óptica de PMMA..	68
5.	CONCLUSÕES	72
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS	73
	REFERÊNCIAS	74

1. INTRODUÇÃO

1.1 Corantes sintéticos

Desde a antiguidade, aproximadamente 40.000 anos a.C, o ser humano já possuía um contato direto com as cores, uma vez que já era utilizado corantes naturais junto a gordura animal e aplicados em pinturas rupestres. No Egito, foram encontrados dois corantes em tecidos de múmias: o índigo azul e o vermelho de alizarina. (1) Desde 2.500 a.C, a Índia já possuía um vasto domínio nas técnicas de tinturarias, o que gerou um elevado comércio com a Europa, que foi intensificado quando Vasco da Gama encontrou o caminho marítimo para as Índias e, conseqüentemente, ampliou o domínio das rotas comerciais pelos portugueses. (1) A partir disso, os europeus aperfeiçoaram seus conhecimentos adquiridos com os asiáticos, passando a oferecer uma maior variedade de cores às roupas e utensílios em geral. (2)

No Brasil colonial, o pau-brasil chamou atenção dos portugueses, devido ao seu tronco avermelhado. Eles perceberam que esse tronco, quando descascado e mergulhado em água, produzia uma coloração vermelha e o corante obtido – conhecido também como brasilina – tornou-se amplamente utilizado. (2)

Nos dias de hoje, ainda existem relatos da utilização de corantes naturais provenientes de insetos. No entanto, o rendimento é muito baixo, pois são necessários 70 mil insetos para que se obtenha meio quilo do corante conchonila. (2)

Com o avanço cronológico e tecnológico, e devido à lentidão, instabilidade e demais dificuldades para a obtenção dos corantes naturais, abriu-se espaço para o surgimento de corantes sintéticos. (3) O primeiro corante sintético foi reportado pelo inglês William Perkin, em 1856, quando buscava sintetizar a quinina, utilizada no tratamento da malária. (3) No entanto, obteve como produto um sólido solúvel em álcool, formado uma solução de coloração roxa, obtendo-se assim o primeiro corante sintético, que foi denominado mauveína ou púrpura de anilina. A partir da mauveína, novos corantes sintéticos foram estudados e produzidos, possibilitando o uso da cor na indústria têxtil. (3)

Aproximadamente 90% da totalidade de corantes utilizados são de origem sintética, podendo ser aplicados em uma gama de setores, dentre eles: tintas de

impressão, construção civil, plásticos, cerâmicas, cimentos, tecidos, papéis, velas, alimentos, cosméticos, produtos farmacêuticos, dentre outros. (4) Atualmente os preços destes produtos vêm aumentando consideravelmente por conta do elevado custo do petróleo e dos metais, que são à base de vários desses compostos. (4)

Diante da ampla variedade de corantes sintéticos empregados na indústria, pode-se classificá-los de acordo com a sua estrutura química ou por meio de sua aplicação à fibra têxtil. (5-7) Assim podem ser separados nos seguintes grupos: reativos, diretos, branqueadores, à cuba, de enxofre, pré-metalizados, dispersivos, ácidos e, por fim, os corantes azóicos.

A classe dos corantes azóicos é a mais diversificada e economicamente mais importante. Sua cor é originada devido à presença do grupamento cromóforo azo ($-N=N-$) em sua estrutura, enquanto a intensidade e absorção são variáveis de acordo com os elétrons π e η conjugado a este grupo. O sistema de conjugação formado por dois núcleos aromáticos $R-N=N-R'$ em que R e R' podem ser tanto uma arila ou alquila é certamente o mais importante. Ressalta-se ainda que alguns dos derivados mais utilizados contém duas ou mais arilas em sua estrutura por conta do deslocamento de elétrons, provocando assim uma coloração típica de interesse industrial para o tingimento de fibras naturais ou sintéticas e para colorir doces, bebidas e alimentos. (8-9)

1.2 Tartrazina

O alvo de estudo desta dissertação foi o corante alimentício denominado de Tartrazina, que é um composto monoazóico, pois apresenta um grupamento $-N=N-$ no centro da sua estrutura. Apresenta-se na forma de um pó de coloração amarela, solúvel em água e amplamente utilizados em produtos alimentares, drogas, cosméticos e formulações farmacêuticas. Em contrapartida, o consumo em altas quantidades desse corante pode ser prejudicial à saúde humana, pois pode provocar várias reações adversas, dentre elas: problemas dermatológicos como urticárias (erupções cutâneas) e eczemas; problemas respiratórios como asma, bronquite e broncoespasmos além de náuseas, renites e dores de cabeça. (10)

Diante disso, esse corante necessita de um controle em sua utilização de forma que a quantidade empregada esteja dentro dos valores aceitáveis de ingestão diária (*Acceptable Daily Intake* - ADI). Segundo o *Joint Expert Committee on Food*

Additives (JECFA) a ingestão diária Tartrazina admissível por pessoa é de até 7,5 mg Kg⁻¹ de peso corpóreo, ou seja, para um adulto com 60 kg e uma criança de 30 Kg, por exemplo, é permitido a ingestão de até 450 e 225 mg desse corante, respectivamente. (11)

A Tartrazina, conforme exemplificada na Figura 1, é amplamente utilizada como aditivo alimentar, sendo encontrada em refrigerantes, pudins instantâneos, batatas fritas, creme em pó, sopas, molhos, sorvetes, doces, goma de mascar, compotas, marmelada, mostarda, iogurte, etc. Na indústria cosmética, pode ser encontrada em sabonetes, produtos de cabelo e hidratantes. Além de estar presente em giz de cera, tinta selo e no setor farmacêutico em vitaminas, antiácidos, cápsulas e etc. (12-14)



Figura 1 - Tartrazina e suas diferentes matrizes alimentícias encontradas.

Fonte: <http://www.liberoalimentos.com.br/2012/02/cuidado-com-a-alergia-a-tartrazina>. (15)

A Tartrazina ou trissódico 5-hidroxi-1-(4-sulfonatofenil)-4-(4-sulfonato-fenilazo)-H-pirazol-3-carboxilato, segundo a (IUPAC), possui fórmula molecular C₁₆H₉N₄Na₃O₉S₂ (Figura 2) e massa molecular de 534,3 g mol⁻¹. A solubilidade a 25 °C é de 20 g/100 mL em água, 18 g/100 mL em glicerina, 7 g/100 mL em propileno e < 0,1 g/100 mL em etanol. A absorvância máxima ocorre no comprimento de onda de 426 nm em água. O corante Tartrazina ainda pode ser utilizado com outros corantes, como o azul brilhante e o verde S, produzindo

diferentes tons de verde. (16) Mesmo possuindo uma alta estabilidade à luz e ao calor, esse corante descolore na presença de ácido ascórbico e SO_2 . Na comercialização, apresenta teor de pureza superior a 85% e apresenta valor de pKa igual a 9,43.

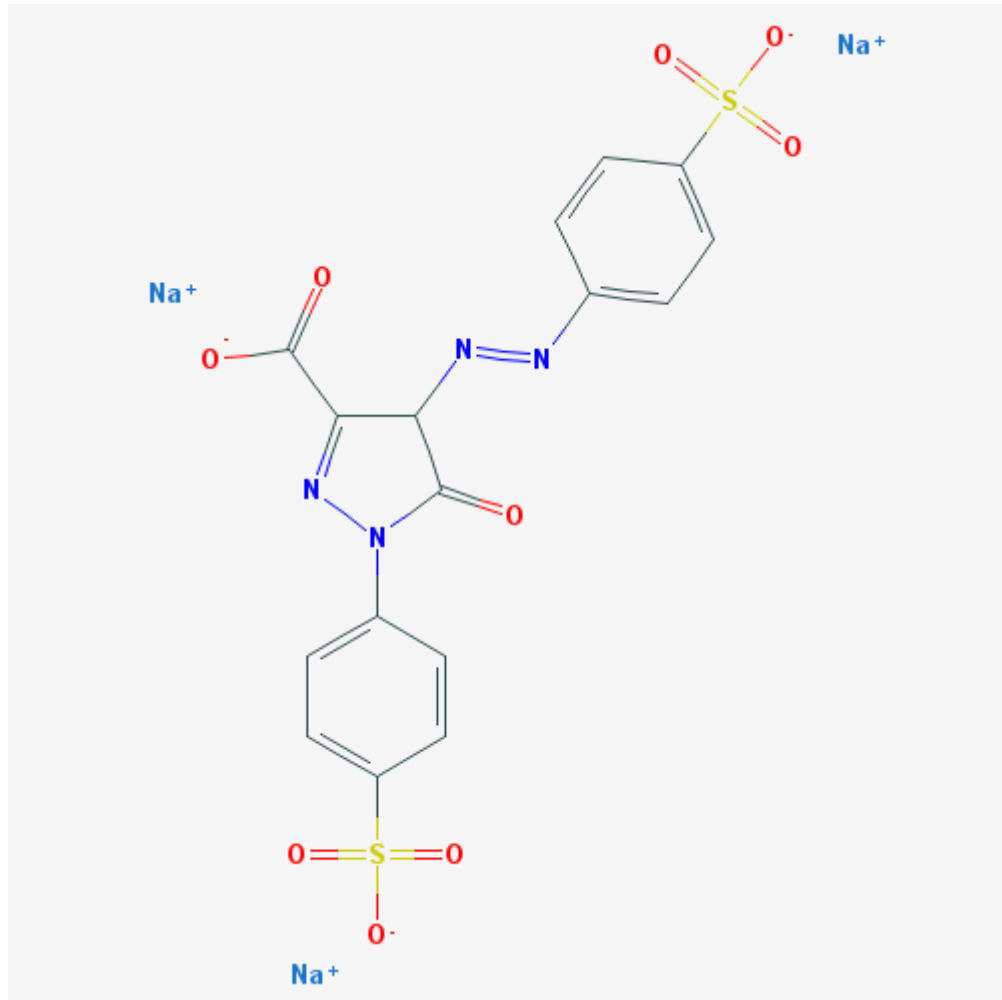


Figura 2 - Estrutura do corante Tartrazina.
Fonte: autor do trabalho.

Em virtude dos prejuízos que o consumo de altas quantidades desse corante podem trazer a saúde humana, ressalta-se a necessidade de um método que permita a detecção seletiva, bem como a quantificação do corante Tartrazina em alimentos que façam uso deste composto. Além disso, o controle de qualidade e regulamentação dos corantes já vigentes reforçam a importância de ampliar as técnicas analíticas, assim como a sua eficácia permitindo análises rápidas e confiáveis. (17)

A Tartrazina pode ser quantificada em amostras a partir de diferentes técnicas, como: espectrofotometria (18), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (19), eletroforese capilar (20), e técnicas voltamétricas (21); conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Métodos de detecção para o corante Tartrazina em diferentes matrizes alimentícias empregadas a partir de seus limites de detecção.

Método de detecção	Amostra	Limite de detecção	Referências
Espectrofotometria	Gelatina aromatizada com papaya, doces, e xarope de frutas	0,3 ng mL ⁻¹	(22)
	Gelatina sabores laranja e maracujá	6,3x10 ⁶ ng mL ⁻¹	(23)
Voltametria	Refrigerantes contendo o corante Tartrazina	5,3x10 ⁻³ ng mL ⁻¹	(24)
	Refrigerantes comercialmente disponíveis contendo o corante Tartrazina	1,1 x 10 ⁻³ ng mL ⁻¹	(25)
Eletroforese capilar	Amostras de bebidas contendo o corante Tartrazina	72 ng mL ⁻¹	(26)
	Bebidas alcoólicas com aromatizantes	4x10 ² a 2,5x10 ³ ng mL ⁻¹	(27)
CLAE	Xaropes e bebidas contendo o corante Tartrazina	25 ng mL ⁻¹	(28)
	Amostras de alimentos contendo o corante Tartrazina	15-25 ng mL ⁻¹	(29)

Fonte: autor do trabalho.

Mesmo havendo diversas metodologias empregadas para a determinação do corante Tartrazina em amostras, algumas delas apresentam desvantagens devido a suas limitações, como preparação de amostras, alto custo e elevada quantidade de solvente empregado e mão de obra especializada. (30) A fim de transpor essas barreiras, uma alternativa interessante e promissora para detecção e quantificação desse corante e, ainda, pouco explorada é o desenvolvimento de sensores ópticos, denominados também de optodos ou optrodos, baseados em fibras ópticas. (30) O uso desses sensores pode ser uma alternativa atraente, uma vez que os corantes possuem capacidade de absorver luz na região espectral do visível, permitindo

assim seu monitoramento por técnica espectrofotométrica. Além disso, a escolha de um elemento reconhecedor adequado pode ampliar a seletividade do sensor, permitindo a determinação do analito em amostras mais complexas.

1.3 Sensores e optodos

A IUPAC define sensor químico como um dispositivo capaz de transformar a informação química, advinda de uma reação química do analito, ou uma propriedade física do sistema investigado em um sinal analítico mensurável. (31)

Os sensores podem ser divididos em sensores físicos e químicos. Sensores físicos têm como principal objetivo medir exclusivamente propriedades físicas, como viscosidade e temperatura. Já os sensores químicos são capazes de identificar a concentração de uma substância em análise e possuem como subclasse os biossensores que são sensores de identificação molecular, cuja principal base são os processos biológicos. (32)

Independente da classificação (químicos ou biossensores) todos os sensores são compostos por um transdutor e um elemento reconhecedor. O transdutor é capaz de transformar a energia química contida em uma amostra em um sinal analítico mensurável, porém sem garantir seletividade à análise. Enquanto que o elemento de reconhecimento, que pode ser considerando o principal componente do sensor, atribui seletividade ao sistema, impedindo interferências de outros elementos da amostra. (31-32)

Os sensores ópticos são capazes de utilizar a radiação eletromagnética para gerar um sinal analítico no transdutor e podem ser classificados de acordo com a propriedade óptica utilizada, podendo-se destacar: absorbância, reflectância, luminescência, fluorescência e evanescência, podendo cobrir diferentes regiões do espectro eletromagnético, como ultravioleta, visível, infravermelho e infravermelho próximo. Nesse sentido, torna-se possível que as medidas sejam coletadas em função da intensidade da radiação e outras propriedades como índice de refração, espalhamento, difração e polarização. (31-32)

Para o estudo dos sensores ópticos, faz-se necessária a compreensão de maneira mais efetiva do conceito de onda evanescente. Uma onda evanescente é uma onda de campo próximo, com uma intensidade que exhibe um decaimento

exponencial sem a absorção em função da distância do limite no qual a onda foi formada. Essas ondas são soluções de equação de onda e são formadas e transportadas no interior de um guia de onda óptico e sofre reflectância interna total quando entra em contato com a interface da fibra e o meio externo que apresenta um menor índice de refração. Elas podem ser encontradas no contexto da óptica e de outras formas de radiação eletromagnética, acústica e mecânica quântica. (33)

Os sensores ópticos funcionam basicamente da seguinte maneira: uma luz advinda de uma fonte apropriada é introduzida na fibra óptica para interagir com a fase sensora. Como resultado disso, ocorre uma modificação do sinal óptico que volta pela fibra e é levado até um sistema de detecção de luz, onde é possível ser medido. (34)

O desenvolvimento de sensores seletivos consiste na imobilização da fase sensora sobre a superfície do transdutor. No caso dos sensores ópticos descritos neste trabalho, a imobilização deve ocorrer sobre a fibra óptica. Nesse sentido, podem ser empregadas diferentes metodologias para a imobilização do elemento reconhecedor sobre a fibra óptica, como: adsorção, atração eletrostática, ligação covalente e oclusão. (34)

Na oclusão, método escolhido para a realização dos ensaios que serão relatados em sessões posteriores, o elemento reconhecedor encontra-se no interior de espaços intersticiais da estrutura de um composto tridimensional polimérico como, poliacrilamida, gelatina, ou ainda de um filme polimérico que é bidimensional como (PVC, PVA ou silicone). (34)

Estes sensores podem ser aplicados em diversas áreas de extrema importância para a química analítica, apresentando inúmeras vantagens, como fabricação simples, possibilidade de análise remota em tempo real, a não necessidade do uso de um dispositivo de referência, baixo custo, permitindo o desenvolvimento de fases sensoras descartáveis e, sobretudo, uma boa seletividade e sensibilidade. (35-36)

Uma maneira de aumentar a seletividade e otimizar a fase de reconhecimento do sensor óptico seria a utilização de polímeros molecularmente impressos conhecidos como MIP.

1.4 Polímeros molecularmente impressos (MIP)

Dentre os diversos métodos para selecionar e concentrar moléculas distintas, um caminho que tem se mostrado inovador é a síntese de polímeros molecularmente impressos – MIPs (*molecularly imprinted polymers*).

Esses polímeros, que podem atuar como fase sensora de optodos, realizam o reconhecimento do analito altamente seletivo, devido à formação de cavidades que são complementares estrutural e funcionalmente ao analito. São conhecidos como polímeros biomiméticos por mimetizarem o reconhecimento biológico do tipo antígeno-anticorpo ou enzima-substrato. (37)

Para a obtenção desses polímeros molecularmente impressos faz-se necessário uma síntese que consiste na interação entre uma molécula molde com monômeros funcionais para a formação de um complexo denominado molde-monômero. Posteriormente adiciona-se um monômero estrutural responsável pela realização de ligações cruzadas com esse complexo que contribuirá, subsequentemente, para a formação da matriz polimérica. Por fim, é adicionado um iniciador radicalar para que a reação de polimerização seja iniciada, por meio do ataque do radical às duplas ligações dos monômeros. Depois que o polímero é formado, a molécula molde é removida da matriz polimérica por meio de solvente no qual a molécula molde seja altamente solúvel, ou, quando necessário, por meio de clivagem química, se a molécula estabelecer ligação covalente com o monômero. (38)

Com a extração da molécula molde, o polímero obtido possuirá cavidades com tamanho uniforme e seletivo capazes de reterem a molécula molde presente na amostra. Comumente é empregado como molécula molde o próprio analito.

Um esquema ilustrativo de síntese do MIP e com a remoção da molécula molde é mostrado na Figura 3.

A síntese de MIP pode ser realizada utilizando diferentes métodos, dentre eles: em bulk, precipitação, suspensão, entre outros.

A técnica em bulk é uma das mais populares, devido a sua simplicidade de preparo. Contudo, a necessidade de moagem e peneiramento para que se obtenham as partículas no tamanho de interesse tornam o método lento. Somado a isso, há alguns inconvenientes, como a produção de partículas em formas e

tamanhos irregulares, bem como, a possibilidade de destruição de interações e cavidades formadas durante a moagem. (40-41)

O método de precipitação é análogo ao método de bulk, apresentando como única diferença prática a utilização de uma grande quantidade de solvente porogênico com a finalidade de impedir a formação de uma pasta polimérica. A formação deste precipitado garante a formação de partículas menores e uniformes. (41)

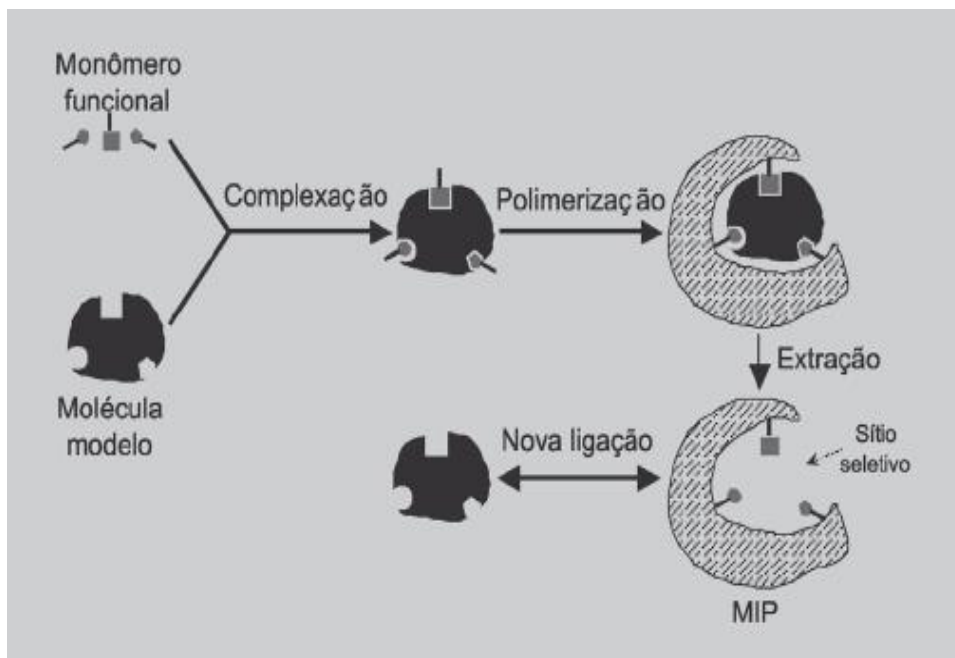


Figura 3 - Representação esquemática do processo de impressão molecular. (39)
Fonte: <http://deolhonaanalise.blogspot.com.br/2011/09/polimero-de-impressao-molecular>.

Já o método de suspensão emprega dois solventes com polaridades diferentes. Esse método também produz partículas uniformes e apresenta-se útil quando a molécula molde e monômero são capazes de agir por interações hidrofóbicas e iônicas. (41)

No processo de impressão molecular, a molécula molde é responsável pela organização espacial de cada um dos grupos funcionais dos monômeros. (42) O monômero funcional apresenta a função de interagir com grupos químicos da molécula molde, aumentando a seletividade das cavidades que serão formadas; esses monômeros podem apresentar caráter ácido, básico ou neutro. (43-44) O monômero estrutural é responsável, sobretudo, por estabilizar os locais de ligação com reconhecimento molecular e estabilizar mecanicamente a matriz polimérica,

sendo que tanto o tipo quanto a quantidade desse monômero possui grande impacto na seletividade do MIP. (43,45,46) O iniciador radicalar permite o início da reação de polimerização por radicais livres, podendo ser ativo basicamente de duas maneiras: térmica ou por radiação UV. (35,47) Finalmente, o solvente consiste no meio onde estão todos os componentes solubilizados, ressaltando o fato de que este não deve interferir na interação analito/monômero. (42)

Juntamente com seu caráter seletivo e sua alta especificidade os MIP possuem ainda vantagens como: elevada capacidade de adsorção, estabilidade química, resistência a ambientes adversos e reprodutibilidade no preparo do polímero; o que os torna uma alternativa interessante para o desenvolvimento de sensores químicos, onde atuarão como elemento de reconhecimento de optodos, conferindo uma alta seletividade ao sistema. Além de ser possível realizar extrações, pré-concentrações e *clean-up* de amostras de forma sensível. (48)

As informações referentes à MIP para corantes presentes na literatura são relativamente recentes. O primeiro MIP para corante foi elaborado por Puoci et al. (49), que executaram a síntese de um MISPE para o corante Sudan I, com o intuito de concentrar o composto no MISPE e analisar por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A análise em amostras contendo o corante sugeriu que a purificação pelo MIPSE foi uma alternativa considerada aceitável para o preparo de amostras em análises rotineiras quando a quantidade de Sudan I estivesse no nível de traços.

Um polímero molecularmente impresso a base de titânio foi sintetizado pelo método sol-gel, utilizando o corante *Sunset Yellow* como molécula molde e ausências de monômeros funcionais e estruturais. O MIP foi empregado como um material em extração em fase sólida para pré-concentração e isolamento de corantes com grupo ácido sulfônico em bebidas. (50)

Foi produzido um MIP para o corante Laranja Básico II, utilizando o acrilato glicol rosina maléico como monômero estrutural e não os reagentes clássicos para esse fim. Segundo os autores, a tendência de impressão, seletividade e o desempenho do novo MIP foi superior aos polímeros sintetizados com os reagentes de ligação cruzada tradicional, podendo assim ser utilizado como material para extração em fase sólida na determinação deste corante em alimentos. (51)

Diante do exposto, o presente trabalho apresenta os resultados obtidos para a síntese, otimização da síntese, caracterização do material obtido por meio de estudo

de afinidade por UV-vis e reflectância difusa, e imobilização de um MIP para o corante Tartrazina, usando a oclusão do material sobre a superfície de fibras ópticas visando o desenvolvimento de optodos.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho visou o desenvolvimento de um sensor óptico para determinação do corante Tartrazina em amostras de alimentos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimização dos parâmetros de síntese para a avaliação dos polímeros para a Tartrazina.
- Utilização do MIP como fase de reconhecimento sobre fibras ópticas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e Soluções

Para a síntese do MIP pelo método em *bulk* foram utilizados os seguintes reagentes: Tartrazina como molécula molde, ácido metacrílico, acrilonitrila e 1-vinilimidazol como monômeros funcionais; etileno-glicoldimetacrilato (EGDMA) como monômero estrutural; 2,2'-azo-*bis*-(2-metilpropionitrila) (AIBN) como iniciador radicalar, todos fornecidos pela Sigma-Aldrich®. O solvente porogênico empregado foi o metanol (J. T. Baker®). Para a remoção do analito da estrutura do MIP utilizou-se uma mistura de metanol e ácido acético, ambos fornecidos pela Synth®.

Para a síntese do MIP pelo método de precipitação foram utilizados os seguintes reagentes: Tartrazina como molécula molde; *N-N'*-metileno-*bis*-acrilamida como monômero estrutural; persulfato de potássio como iniciador radicalar, todos fornecidos pela Sigma-Aldrich®. Acrilamida, monômero funcional, foi fornecida pela Fluka®. O solvente porogênico empregado foi a água Milli-Q®. Para remoção do analito da estrutura do MIP utilizou-se uma solução aquosa de hidróxido de amônio (fornecido pela Quemis®).

A imobilização dos polímeros sobre a superfície da fibra óptica realizada via oclusão empregou Nafion® que é um copolímero solúvel a 5% em álcoois de baixa massa molecular, esse Nafion® foi dissolvido em dimetilformamida (DMF) que é utilizado para dispersar o copolímero ambos fornecidos pela Sigma-Aldrich®.

3.2 Instrumentação

As medidas espectrofotométricas foram realizadas em um espectrofotômetro UV/vis da Agilent Technologies® modelo Cary 60; o software usado para as medidas foi o ScanCaryWinUV®. Para as medidas em solução utilizou-se cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, na faixa de comprimentos de onda no intervalo de 200 a 800 nm. As medidas de reflectância difusa em sólidos foram executadas no módulo específico denominado de Barrelino.

Para a avaliação da imobilização do MIP sobre a fibra óptica foram empregadas fibras ópticas de polimetilmetacrilato (PMMA) fornecidas pelo Dr. César Polachini, vinculado ao departamento de Química Geral e Inorgânica do Instituto de

Química, UNESP–Araraquara, que foram acopladas ao módulo específico do espectrofotômetro para realização das medidas.

A bomba de vácuo utilizada é da EIKONAL® (Modelo 131/132).

Empregou-se o sistema Milli-Q *Ultra PureWater System* da marca Millipore® para a obtenção de água ultrapura.

3.3 Simulação computacional

Para a obtenção de MIP altamente seletivos, é reconhecido que a interação entre o monômero e a molécula molde é um dos fatores cruciais na síntese satisfatória destes materiais. Desta forma, as simulações realizadas pelo Dr. Marcos Vinicius Foguel focaram-se na obtenção da informação que indicasse a maior afinidade entre os corantes e diversos monômeros comercialmente disponíveis e que são comumente empregados na síntese de MIP para diferentes analitos. (52)

Para isto, foram empregados os seguintes programas: (53-54)

1. **HyperChem® 8.0.5**: utilizado para modelagem das moléculas a serem utilizadas na síntese dos MIP.

2. **OpenEye®** (pacote de *softwares*) contendo os programas:

- *VIDA 3.0.0*: utilizado para visualizar as moléculas modeladas e para conferir possíveis erros de ligações entre átomos.

- *Omega2*: gera diversos confôrmeros das moléculas, o que torna possível levar em consideração possíveis impedimentos espaciais. Por padrão, são gerados 10 confôrmeros de cada corante, sendo escolhidos 3 ao acaso para realizar os testes simulatórios.

- *Szybki 1.2.2*: programa que leva a molécula até seu estado de menor energia, portanto, o mais estável.

3. **Autolt 3.3.6.0**: aplicativo que utiliza linhas de comandos (*scripts*) para automatizar processos repetitivos durante a modelagem molecular, eliminando erros humanos durante os procedimentos.

4. **MultipleMinimaHypersurfaces (MMH)** com **MOPAC (Molecular Orbital PACkage) 2009**: utilizado para realizar as simulações propriamente ditas. Este programa faz a aproximação dos monômeros com a molécula que será usada como molde calculando a energia liberada, resultando assim a afinidade entre os mesmos.

MOPAC é um utilitário que emprega química quântica semi-empírica para os cálculos de aproximação.

Foram avaliados os 20 monômeros mostrados na Tabela 2, os quais foram nomeados de MP1 a MP20 para fins de simplicidade de análise dos resultados.

Tabela 2 - Monômeros comumente utilizados na síntese de MIP e escolhidos para realização da simulação computacionais.

Símbolo	Monômeros	Símbolo	Monômeros
MP1	bis-acrilamida de <i>N,N</i> -metileno	MP11	Ácido metilenosuccínico
MP2	Ácido imidazol-4-acrílico	MP12	Ácido metacrílico
MP3	Etil-éster de imidazol-4-acrílico	MP13	3-divinilbenzeno
MP4	Ácido acrílico	MP14	4-divinilbenzeno
MP5	Acrilamida	MP15	Estireno
MP6	Acroleína	MP16	1-vinilimidazol
MP7	Alilamina	MP17	2-vinilpiridina
MP8	Acrilonitrila	MP18	4-vinilpiridina
MP9	Etileno-glicol-dimetacrilato	MP19	Ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propano-sulfônico
MP10	2-(cianoetilamino)etilmetacrilato	MP20	2-hidroxietil-metacrilato

Fonte: retirada de A.Wong at al. (53)

3.4 Síntese do MIP e NIP

3.4.1 Síntese em bulk

Diferentes sínteses dos polímeros impressos foram realizadas para o corante Tartrazina. Foram avaliados o monômero funcional, a proporção entre os reagentes e o método de síntese, com o objetivo de obter o material mais adequado para a melhor religação do analito às cavidades seletivas do MIP.

Os MIP descritos a seguir foram sintetizados pelo método de polimerização em *bulk* (em meio homogêneo). Posteriormente, foram realizadas análises para a remoção da molécula molde do corante Tartrazina da estrutura do MIP. Em seguida, foram executadas as avaliações de adsorção/religação para analisar a eficiência do material sintetizado.

Para a obtenção dos polímeros, a reação foi conduzida em frascos selados contendo inicialmente Tartrazina (molécula molde), ácido metacrílico, acrilonitrila e 1-vinilimidazol como monômeros funcionais e o metanol como solvente porogênico.

Esta mistura foi deixada em repouso por 4 horas para a interação entre monômero e analito. Após este tempo, o monômero estrutural EGDMA foi acrescentado e o meio reacional foi desareado sob fluxo de N₂ durante 10 minutos; para remoção do oxigênio da solução. Em seguida, o iniciador radicalar 2,2'-azo-*bis*-(2-metilpropionitrila) (AIBN) foi adicionado e a solução foi desaerada com N₂ por mais 5 minutos. Finalmente, as reações foram induzidas por aquecimento durante 12 horas em banho-maria a 60 °C. A quantidade de cada um dos componentes empregados e a proporção de síntese entre molécula molde (MM), monômero funcional (MF) e monômero estrutural (ME) é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 - Quantidade usada dos reagentes para a síntese em *bulk* do MIP para o corante Tartrazina.

Razão entre MM:MF: ME	Tartrazina (mmol)	Monômeros (mmol)	EGDMA (mmol)	AIBN (mmol)	MeOH (mL)
1: 4: 20	0,1	0,4	1	0,04	5

Fonte: autor do trabalho.

Para a síntese descrita, um polímero de controle (NIP: *non-imprinted polymer*) sempre foi sintetizado exatamente como o MIP, exceto pela adição da molécula molde ao meio reacional.

Os polímeros resultantes foram submetidos à lavagem. Primeiramente, foi realizada uma lavagem a frio com água (pois a Tartrazina apresenta uma alta afinidade com a água); empregando um sistema de filtração a vácuo, visando à remoção de uma grande porcentagem de corante empregado no procedimento de

síntese. Posteriormente, os polímeros foram lavados utilizando um sistema soxhlet com 100 mL de solução metanol e ácido acético na proporção 8:2 (v/v) até a total remoção da molécula molde da estrutura do MIP, sendo a solução trocada a cada 24 h. Para eliminar o ácido acético dos polímeros, a última lavagem foi realizada somente com metanol. O monitoramento da remoção de corante das cavidades do MIP foi realizado por medidas de absorbância na região do UV-Vis.

3.4.2 Método de precipitação

O MIP descrito a seguir foi sintetizado pelo método de precipitação por meio de uma abordagem não covalente em meio homogêneo. (55)

A molécula molde Tartrazina e o monômero funcional acrilamida foram solubilizados em água destilada que é o solvente empregado na síntese. Essa mistura foi deixada em repouso por 2 horas para a interação entre o monômero e o analito. Após esse tempo o monômero estrutural *N-N'*-metileno-*bis*-acrilamida foi acrescentado e o meio reacional foi desareado sob fluxo de N₂ durante 10 minutos para a remoção do oxigênio da solução. Em seguida o iniciador de polimerização, persulfato de potássio (KPS) foi adicionado e a solução foi desareada com N₂ novamente por mais 15 minutos. Finalmente, os frascos foram selados sob essa atmosfera e colocados em um banho de água mantido a 70 °C durante 22 horas.

As partículas obtidas foram lavadas utilizando um sistema soxhlet com 100 mL de uma solução quente de água/amônia 8:2 (v/v). Em seguida, foi utilizada água para a remoção total da molécula molde da estrutura do MIP, sendo a solução trocada a cada 24 horas. O monitoramento da remoção de corante das cavidades do MIP foi realizado por medidas de absorbância na região do UV-Vis.

Para toda a síntese descrita, um polímero de controle (NIP: *non-imprinted polymer*) sempre foi sintetizado exatamente como o MIP, exceto pela adição da molécula molde no meio reacional.

A quantidade de cada um dos componentes empregados e a proporção de síntese entre MM, MF, ME é mostrada na Tabela 4.

Tabela 4 - Quantidade dos reagentes para a síntese pelo método de precipitação de MIP para o corante Tartrazina

Razão entre MM:MF: ME	Tartrazina (mmol)	Acrilamida (mmol)	N-N-metileno-bis acrilamida (mmol)	KPS (mmol)	Água (mL)
1: 2: 10	1	2	10	0,185	40

Fonte: autor do trabalho.

Posteriormente, ao realizar os testes de ligação para analisar a eficiência do MIP, foi analisado o sobrenadante do meio reacional para quantificar o analito não ligado aos polímeros. Adicionalmente, foram realizados experimentos diretamente nos polímeros secos obtidos após os experimentos de ligação usando para tal a refletância difusa obtida pelo módulo Barrelinho do espectrofotômetro UV/vis que será descrito na sessão posterior.

3.4.3 Aplicação do módulo de reflectância para sólidos “Barrelinho” do Cary 60-UV-Vis nos experimentos de adsorção da Tartrazina ao MIP obtido por precipitação.

Barrelinho é um sistema de ATR (Reflectância Total Atenuada) que serve como um detector acoplado a um sistema de fibra óptica no espectrofotômetro Agilent Technologies Cary 60[®]-UV/vis e possibilita a medida de refletância difusa em sólidos. A Figura 15 apresenta uma foto referente ao acessório.



Figura 4 - Sistema de vídeo ATR, Barrelinho® utilizado para medir refletância em sólidos.
Fonte: autor do trabalho.

A reflectância total atenuada é uma técnica de contato muito usada para análise de superfícies de polímero. Além de ser utilizada para se obter espectros no infravermelho de amostras como: pastas, adesivos e pós, que não podem ser analisados pelos métodos normais, como pastilhas ou filmes. O princípio deste tipo de espectroscopia baseia-se no fato de que quando um feixe de radiação passa de um meio mais denso (cristal de ATR) para um meio menos denso (amostra), ocorre reflexão. A fração do feixe de luz incidente que é refletida aumenta conforme aumenta o ângulo de incidência, e quando excede um determinado ângulo crítico (α) a reflexão é completa. No ponto de reflexão (de acordo com observações experimentais) o feixe atua como se penetrasse a uma pequena distância dentro da amostra (3). A profundidade de penetração (d_p) é dada pela Equação 1: (56)

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1 (\sin^2 \theta - n_2^2)^{1/2}} \quad (\text{equação 1})$$

Onde:

n_1 : índice de refração do cristal ATR.

n_2 : índice de refração da amostra.

θ : ângulo incidente.

λ : comprimento de onda da radiação.

A radiação de penetração é chamada onda evanescente. Se a amostra absorve em certo comprimento de onda evanescente, há uma atenuação do feixe a comprimentos de onda correspondentes às bandas de absorção no infravermelho, originando o espectro (3). A técnica ATR tem grande utilidade para examinar materiais densos ou com alta absorção, como é o caso de MIP, e também soluções aquosas. (56)

Os cristais normalmente utilizados são de Germanio (Ge) ou diamante.

3.5 Imobilização de polímeros impressos sobre a superfície da fibra óptica

A imobilização de MIP/NIP sobre a superfície da fibra óptica foi avaliada com os polímeros sintetizados para o corante Tartrazina. Foi realizada a imobilização deste polímero sobre a fibra óptica pelo método de oclusão. Além disso, foi empregado um guia de luz com 4,8 cm de comprimento e 1,0 mm de diâmetro.

A imobilização da fibra óptica de PMMA via oclusão foi realizada em um frasco contendo 200 μL de Nafion® e 6,0 mg mL^{-1} de suspensão polimérica para a Tartrazina (MIP ou NIP) e 400 μL de DMF (*N,N'*-Dimetilformamida). A fibra óptica foi mantida nessa solução a temperatura ambiente até a total evaporação do solvente, sob suave agitação. Após isso retira-se a fibra do frasco e coloca para secar verticalmente durante 24 horas. Em seguida, após a secagem, a fibra modificada é colocada em um acoplador de metal com espelho no fundo, e adaptada ao módulo de fibra óptica do espectrofotômetro e os espectros de reflectância difusa foram registrados. O esquema dessa imobilização é apresentado abaixo na Figura 5.

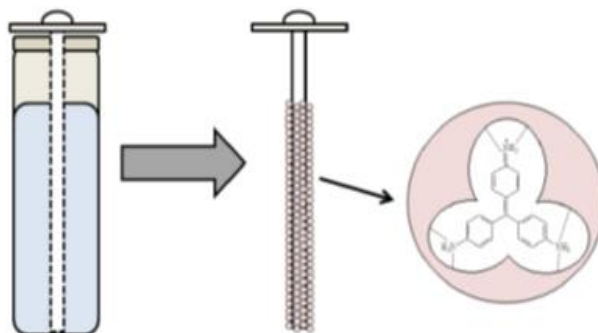


Figura 5 - Esquema da imobilização do MIP para o corante BR9 sobre o guia de luz de poliestireno.

Fonte: Foguel (54).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Espectro de absorção e curva analítica

Para determinar o comprimento de onda em que o corante Tartrazina apresenta máxima absorbância, foram realizadas medidas na faixa espectral entre 200 e 700 nm. O perfil dos espectros de absorção na região do UV-Vis do corante Tartrazina em diferentes concentrações é apresentado na Figura 6, juntamente com sua curva de calibração com absorbância molar máxima em 430 nm.

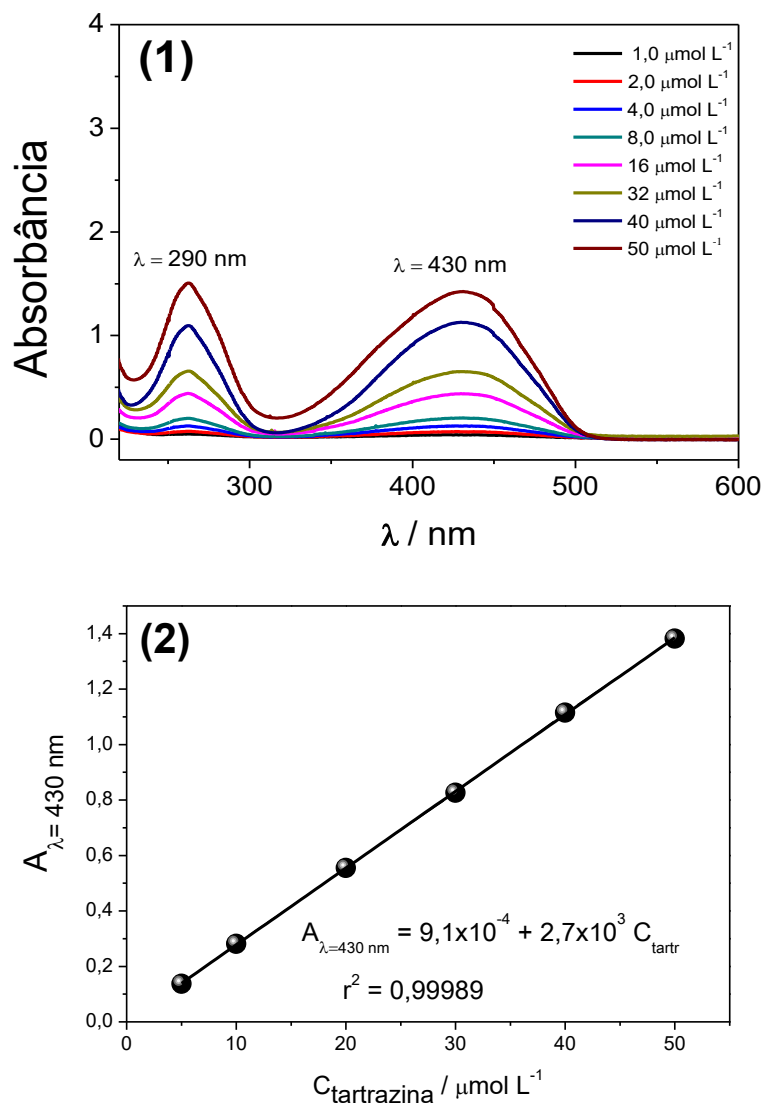


Figura 6 - (1) Espectro de absorção na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante Tartrazina solubilizado em água. (2) Curva analítica referente à absorbância máxima no comprimento de onda de 430 nm.

Fonte: autor do trabalho

O corante apresenta duas bandas de alta intensidade, a primeira em 290 nm, na região do ultravioleta, a qual é atribuída ao grupo aniônico sulfóxido (SO_3^{2-}) e às insaturações do anel aromático correspondente às transições eletrônicas das suas duplas ligações conjugadas. Enquanto a segunda banda em 430 nm, correspondente à absorção referente ao grupo cromóforo azo. Adicionalmente, foi possível estimar o valor da absorvidade molar (ϵ) como sendo igual a $27.688 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, indicando que a Tartrazina é um corante com alta eficiência comercial, pois pequenas quantidades permitirão alta coloração. Além do seu coeficiente de correlação ser igual a 0,9999 para a curva analítica.

4.2. Síntese do MIP pelo método de “bulk”

4.2.1. Simulação computacional

A simulação computacional foi realizada para avaliar a interação do corante Tartrazina com os 20 monômeros comerciais mais empregados para as sínteses de MIP (Tabela 1).

Para cada monômero foram empregados três conformêros diferentes de maneira a avaliar de forma mais precisa as possibilidades de interação entre as diferentes conformações do monômero e o analito.

Os valores obtidos podem ser interpretados como a energia liberada na aproximação entre cada monômero e o corante Tartrazina, sendo que quanto maior a energia liberada (mais negativo o valor), mais afinidade entre eles, e, teoricamente, mais seletivo será o polímero resultante.

Como resultado, obtém-se um gráfico que apresenta a energia de ligação (ΔG de ligação) entre o corante e cada monômero conforme mostra a Figura 7.

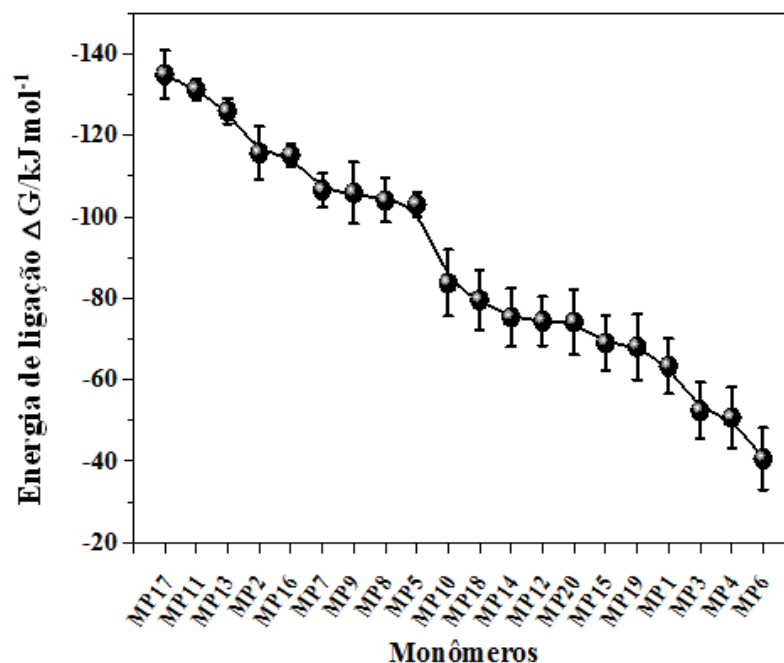


Figura 7 - Resultados das simulações realizadas para avaliar a energia da interação entre três diferentes confôrmeros do corante Tartrazina com os 20 monômeros propostos na Tabela 2.

Fonte: autor do trabalho

Como pode-se observar, os monômeros 2-vinilpiridina (MP17) e ácido metilenosuccínico (MP11) são os que apresentam maior energia de ligação, com valores de $-134,4$ e $-130,7$ $kJ mol^{-1}$ respectivamente, ou seja, são os monômeros com melhor interação com o analito. Enquanto que os monômeros: acroleína (MP6), ácido acrílico (MP4), etil éster de imidazol-4-acrílico (MP3) e bis-acrilamida de N,N-metileno (MP1) são os que apresentam menor energia de ligação; $-40,44$; $-50,52$; $-52,79$ e $-63,30$ $kJ mol^{-1}$, respectivamente, ou seja, são monômeros com menor interação com o analito.

No presente trabalho, optou-se pela escolha dos três monômeros para a síntese dos MIP com o corante Tartrazina e foram levados em consideração dois parâmetros para essa escolha: os valores das energias de ligação usando o resultado da simulação e o caráter ácido/base de cada monômero.

Desta forma, foram escolhidos: o ácido metacrílico (MP12), monômero com caráter ácido e energia de ligação intermediária ($-74,70$ $kJ mol^{-1}$) com o analito; 1-vinilimidazol (MP16), monômero que possui propriedades básicas e com energia de ligação maior que o MP12 ($-114,35$ $kJ mol^{-1}$); e acrilonitrila (MP8), que é uma molécula de característica neutra e energia intermediária ($-103,9$ $kJ mol^{-1}$) para a

interação MF-analito (Figura 6). A razão molar empregada na síntese foi 1:4:20 entre MM, MF, ME, tal como descrito no procedimento experimental.

4.2.2. Remoção da molécula do corante Tartrazina da estrutura do MIP obtido por “bulk”

Foram sintetizados diferentes MIP e NIP empregando os três diferentes monômeros funcionais: ácido metacrílico, acrilonitrila e 1-vinil imidazol, com a proporção entre MM: MF: ME igual a 1:4:20.

Após a síntese do MIP, uma etapa importante a ser realizada é a remoção da molécula molde das cavidades do polímero impresso. Desta forma, a entrada do analito de interesse à cavidade do polímero impresso é viabilizada, propiciando a religação em uma posterior análise. Por essa razão, a remoção do corante Tartrazina das cavidades do MIP foi monitorada por meio de medidas espectrofotométricas na região do UV-vis. Para isso, a solução de lavagem composta por uma mistura de ácido acético/metanol (8:2 v/v) foi empregada no sistema soxhlet com o intuito de remover o analito. A solução de lavagem foi trocada e monitorada a cada 24 h.

Os espectros na região do UV-Vis das soluções de lavagens nos seus respectivos intervalos de tempo são mostrados nas Figuras 8, 9 e 10 (Para MIP e NIP) com os três monômeros funcionais.

Inicialmente foi realizada uma lavagem a frio com água empregando um sistema de filtração a vácuo; com o intuito de se obter uma alta porcentagem de remoção do corante Tartrazina que fica em excesso nas cavidades específicas do MIP. Essa remoção inicial ocorreu com sucesso devido à alta solubilidade da Tartrazina em água. Após isso, foram realizadas mais quatro lavagens utilizando o sistema soxhlet com solução metanol/ácido acético 8/2 (v/v) para a remoção da molécula molde e das moléculas que não participam da síntese, situadas na região ultravioleta do espectro. E, finalmente, a última lavagem foi realizada com metanol para eliminar todo ácido acético dos polímeros.

Podemos observar na Figura 8 que a eliminação dos compostos em excesso ocorreu a partir da segunda lavagem. Já na terceira lavagem não apresentou mais sinais referentes ao excesso. Isso ocorreu tanto para MIP quanto para NIP.

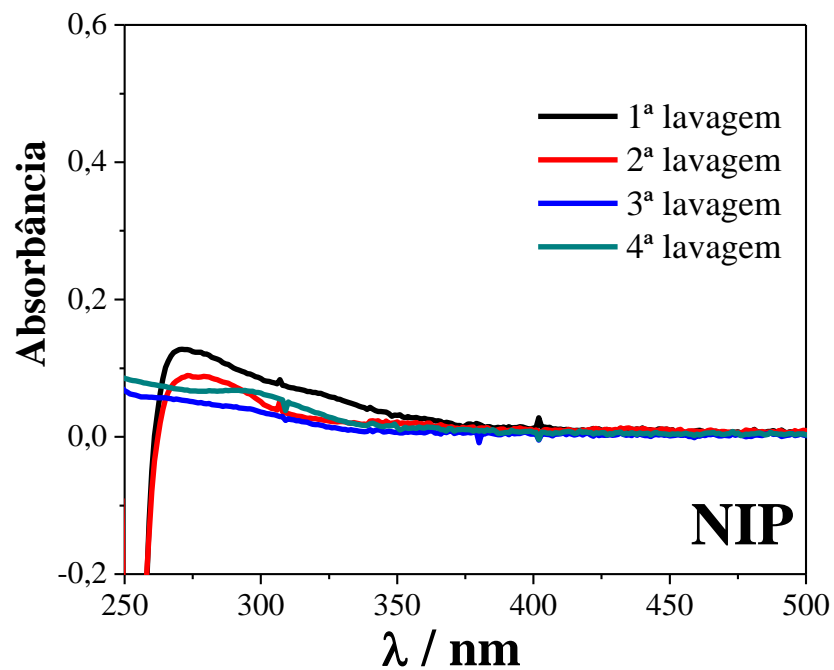
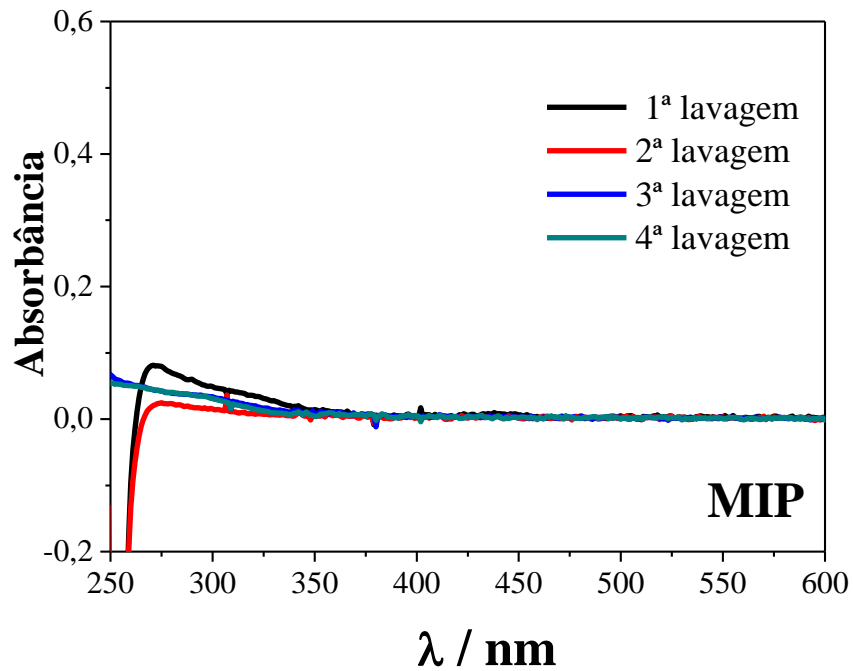


Figura 8 - Espectros de absorção na região UV/vis das soluções de lavagem do MIP e NIP sintetizado com o monômero ácido metacrílico em diferentes tempos de lavagem.
Fonte: autor do trabalho

Para os polímeros sintetizados com o monômero funcional 1-vinilimidazol não foram utilizadas lavagens a frio. As lavagens foram realizadas diretamente empregando um sistema soxhlet com solução metanol/ácido acético (8/2 v/v) e as

últimas lavagens apenas com metanol. Podemos observar na Figura 9 que foram realizadas sete lavagens (trocas de solvente) tanto para MIP como para NIP. Para o MIP, a primeira lavagem apresentou uma grande remoção do corante, porém o MIP ainda apresentou traços do analito até a quinta lavagem. Sendo assim, adotou-se cinco lavagens para o MIP. A partir da sexta e sétima lavagem, nota-se a remoção total dos compostos em excesso.

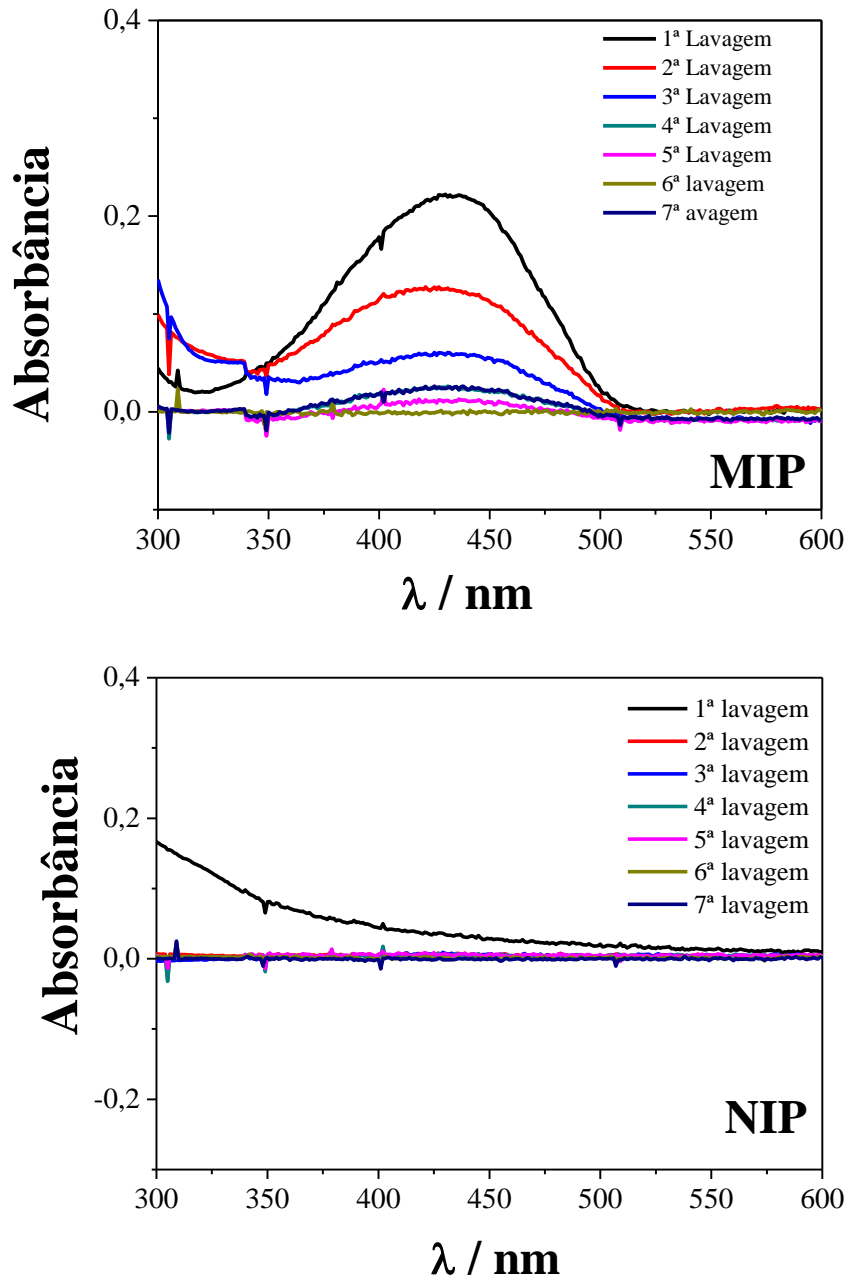


Figura 9 - Espectros de absorção na região UV/vis das soluções de lavagem do MIP e NIP sintetizado com o monômero 1-vinilimidazol em diferentes tempos de lavagem.

Fonte: autor do trabalho.

Já para o NIP, foram necessárias somente duas lavagens para a eliminação do excesso de compostos empregados na síntese, pois os espectros das soluções de lavagem não apresentaram mais os sinais referentes a esses reagentes. No entanto, para comparar o MIP juntamente com o NIP, optou-se por realizar as lavagens até o sétimo dia conforme foi realizada para o MIP. Pode-se concluir, a partir da Figura 9, que a ausência da lavagem a frio inicial retardou a eliminação dos compostos em excesso.

Para os polímeros sintetizados com o monômero acrilonitrila também não foram realizadas lavagens a frio, as lavagens foram feitas diretamente no sistema soxhlet. Pode-se observar na Figura 10 que ocorreu a remoção total dos excessos de reagentes para a síntese a partir da terceira lavagem do NIP (espectro representado em azul). Como pode ser constatado, a ausência de lavagem a frio retardou o processo de remoção dos excessos, evidenciando a necessidade de utilizá-la inicialmente.

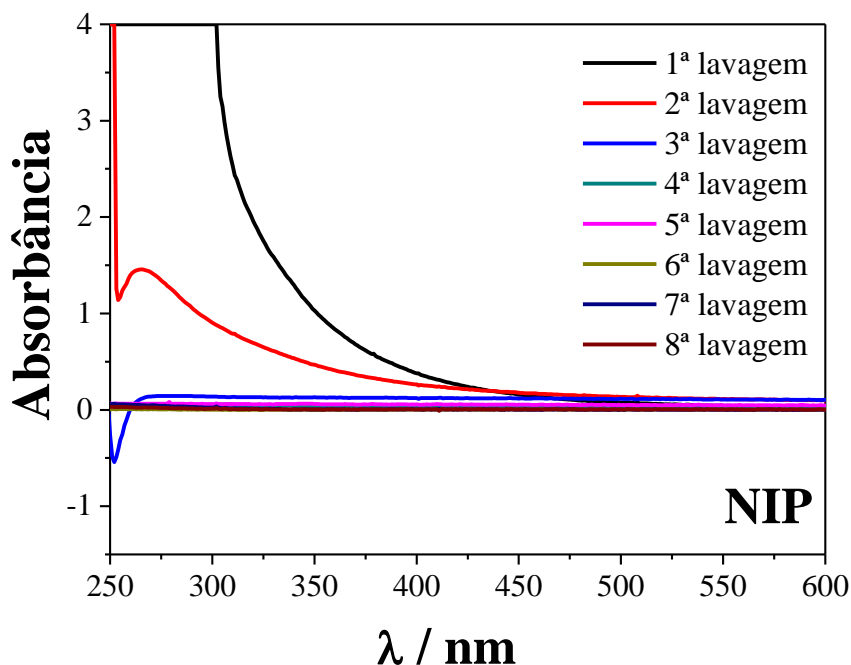


Figura 10 - Espectro de absorção na região UV-Vis das soluções de lavagem do NIP sintetizado com o monômero acrilonitrila em diferentes tempos de lavagem.
Fonte: autor do trabalho.

4.2.3. Estudo de ligação de MIP para o corante Tartrazina através do método em “bulk”

A avaliação do desempenho do polímero foi realizada por meio de estudos de ligação, no qual o objetivo foi verificar se havia o favorecimento da ligação do analito às cavidades específicas do MIP. A concentração de Tartrazina foi fixada em $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e variou-se a quantidade de polímero no meio reacional.

Foram escolhidos três solventes: solução aquosa de Tartrazina; mistura água/etanol (70/30, v/v) e por fim uma mistura de acetonitrila/água (70/30, v/v).

Neste estudo foram usados os polímeros sintetizados com os três monômeros funcionais anteriormente mencionados.

No método de religação uma determinada quantidade de polímero molecularmente impresso (MIP) é colocada em contato com soluções de diferentes concentrações da molécula molde. Após o contato desses compostos por um determinado tempo suficiente para que seja atingido o equilíbrio, a solução pode ser separada do polímero por centrifugação. Esta solução é então usada para medir a concentração de molécula molde (substrato) livre em cada recipiente, sendo determinada por meio de um espectrofotômetro na região do UV-Vis. A quantidade de substrato ligado/adsorvido no interior do polímero molecularmente impresso (MIP) pode então ser calculada pela diferença entre a absorbância medida na solução remanescente após a interação e a absorbância da solução padrão inicial na mesma concentração. Para o cálculo da porcentagem de analito ligado, essa diferença é dividida pela absorbância da solução padrão e multiplica-se por 100, conforme mostrado na Equação 2. (56)

$$\% \text{ ligação} = \frac{Abs_{Padrão} - Abs_{Remanecente}}{Abs_{Padrão}} * 100 \text{ (Equação 2)}$$

Nas Figuras 11 e 12 são mostrados os resultados obtidos nesses estudos. Enquanto que a Figura 13 mostra os resultados apenas com os polímeros à base de 1-vinilimidazol com acetonitrila/ água (70/30 v/v).

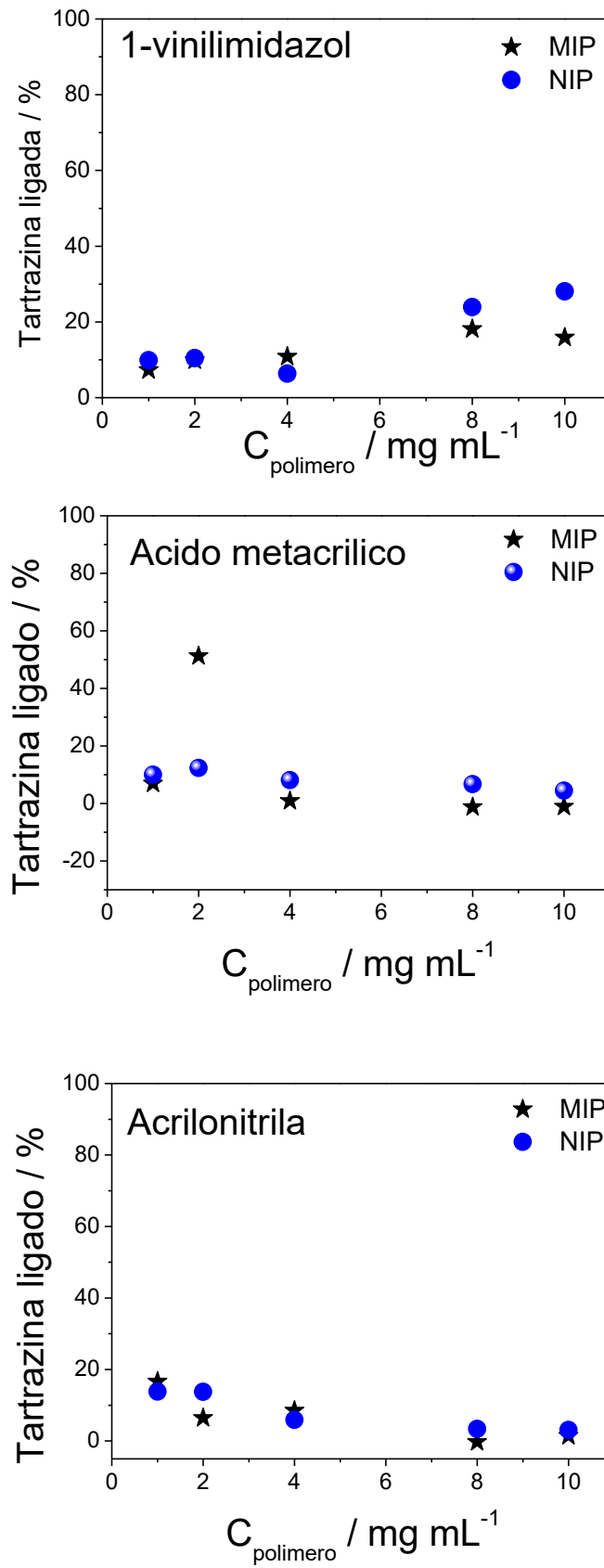


Figura 11 - Porcentagem de ligação do corante Tartrazina ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) nos diversos MIP usando água como solvente.

Fonte: autor do trabalho.

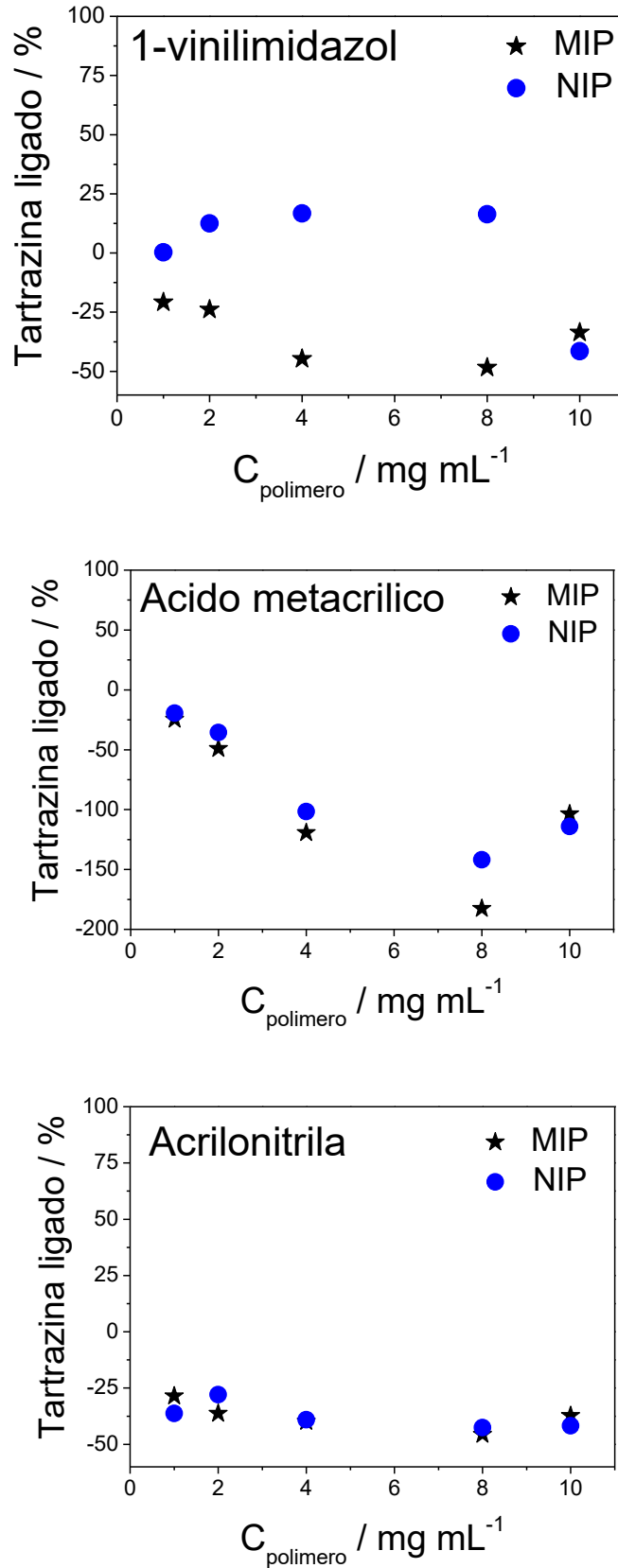


Figura 12 - Porcentagem de ligação do corante Tartrazina ($10 \mu mol L^{-1}$) nos diversos MIP usando solução água/ etanol 70:30 (v/v).

Fonte: autor do trabalho.

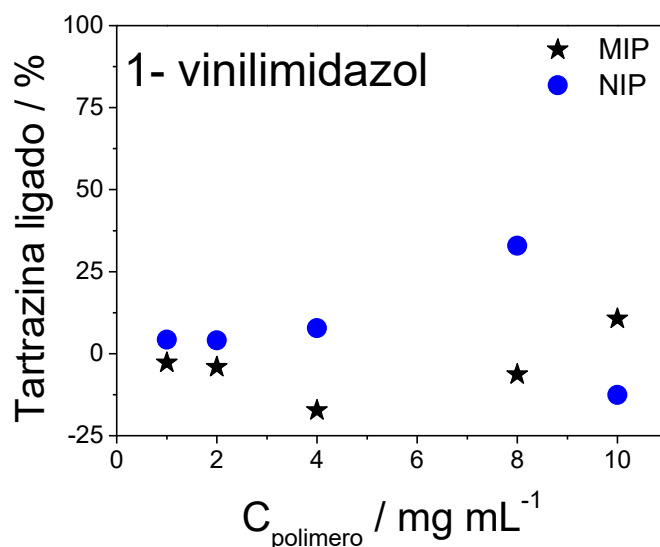


Figura 13 - Porcentagem de ligação do corante Tartrazina ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) nos diversos MIP usando solução acetonitrila/água 70:30 (v/v).
Fonte: autor do trabalho.

Pode-se observar que houve uma porcentagem de ligação do corante a esses polímeros com valores extremamente baixos e negativos, além de apresentar porcentagens de ligação muito semelhantes entre MIP e NIP para os três monômeros avaliados. Podendo concluir que os resultados foram insatisfatórios, pois a interação do analito ocorreu provavelmente aos grupos funcionais livres dos na superfície do polímero, e não às cavidades específicas do MIP. Outra possibilidade é a influência dos solventes usados nos experimentos, pois pode ter havido maior afinidade do analito pelo solvente ao invés do analito pela fase adsorvente (MIP). Já os valores negativos podem estar relacionados com erros experimentais, como a baixa sedimentação dos polímeros ao realizar a separação da fase líquida, obtendo-se uma amostra turva, o que interferi nas medidas de UV/vis.

Diante do exposto, juntamente com a ineficácia dos resultados e do método utilizado (*bulk*) não oferecer parâmetros positivos que justificassem a continuação desse trabalho, foi realizado um novo levantamento bibliográfico com o intuito de encontrar uma nova síntese que atendesse todas as aplicações necessárias para o corante Tartrazina.

Assim, foi avaliada uma síntese descrita por Arabzadeh *et al.* (55) usando o método de precipitação com a proporção 1:2:10 para o MM:MF:ME, empregando a

acrilamida como monômero funcional e água como solvente porogênico, cujos os resultados serão descritos a seguir.

4.3. Teste de ligação pelo método de precipitação

Conforme descrito anteriormente em outros tópicos, a avaliação do desempenho do polímero foi realizada por meio de estudos de ligação para verificar se haveria o favorecimento da ligação do analito às cavidades específicas do MIP.

A concentração de Tartrazina foi fixada em $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e variou-se a quantidade de polímero no meio reacional. O solvente utilizado foi à água, com o intuito de bloquear os grupos ativos livres presentes na estrutura polimérica propiciando assim a ligação junto à cavidade do MIP.

O procedimento experimental para o teste e o cálculo da porcentagem de ligação foi executado do mesmo modo como foi relatado na sessão 4.4 pelo método em *bulk*.

Pode-se observar na Figura 14 que o resultado foi satisfatório, pois os polímeros apresentaram uma alta porcentagem de ligação, principalmente o MIP, indicando que o corante se ligou às cavidades seletivas com bastante eficiência, além de apresentar uma boa diferença entre MIP e NIP em torno de 20 a 30%. Dessa forma é possível afirmar que o MIP obtido por esta metodologia de síntese, foi eficiente.

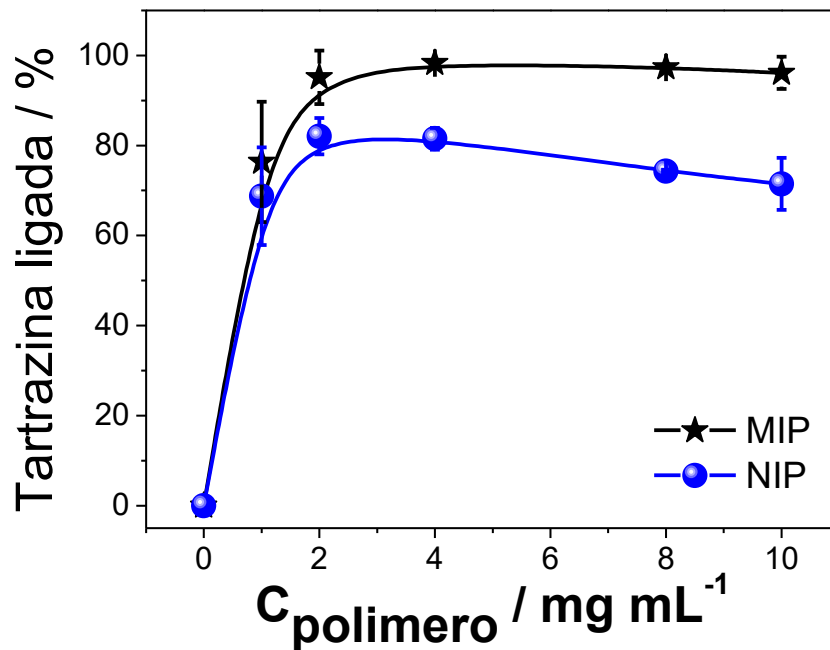


Figura 14 - Análise de ligação do corante Tartrazina $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ com o monômero acrilamida pelo método de precipitação em nova proporção estudada 1:2:10 e empregando a água como solvente.

Fonte: autor do trabalho.

4.4. Isoterma de adsorção do corante Tartrazina aos polímeros obtidos pelo método de precipitação

A avaliação do desempenho do MIP foi realizada a partir de isotermas de adsorção, conforme relatada por Valero-Navarro et al. (57)

A isoterma de adsorção representa a quantidade de um determinado soluto ligado a um adsorvente (Q) em função da concentração de equilíbrio do soluto. Para se construir uma isoterma de adsorção, coloca-se em contato a solução contendo o componente a ser adsorvido em diferentes concentrações iniciais e em temperaturas constantes até o equilíbrio, determinando-se assim a quantidade de material adsorvido. (58) O valor de Q para a construção da curva constitui na quantidade em massa do analito retido por massa de adsorvente (MIP ou NIP) empregado, ou seja:

$$Q = \frac{\text{massa do analito adsorvido}}{\text{massa adsorvente}} \quad (\text{Equação 3}).$$

No presente trabalho foi construída uma isoterma de adsorção em intervalos de concentração de Tartrazina que variaram de 0 a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em um volume total da solução de 1,0 mL e tempo de interação de 2 horas. Na Figura 15 são mostrados os resultados obtidos.

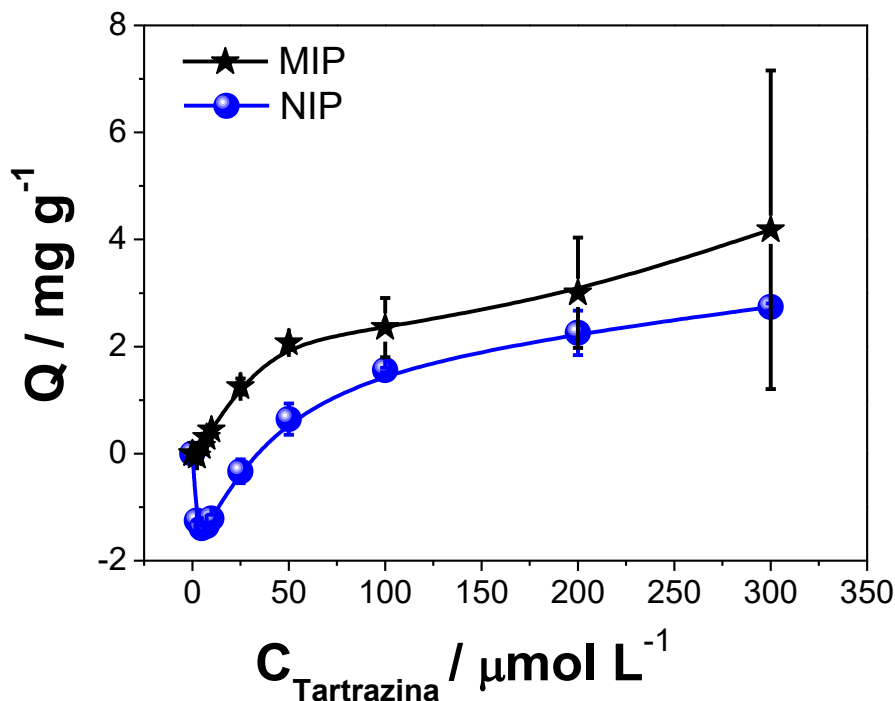


Figura 15 - Isotherma de adsorção do corante Tartrazina para MIP e NIP. Condições experimentais: 8 mg de polímero, volume de 1 mL, e tempo de interação de 2 h. Fonte: autor do trabalho.

Pode-se observar na Figura 15, que os resultados apresentados foram satisfatórios, pois a curva apresenta um formato de hipérbole no qual aumentando a concentração do analito (0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) houve um aumento gradual na capacidade de adsorção; isso indica que as cavidades formadas no MIP conferiram uma alta afinidade e um reconhecimento específico do analito. (34) Desta forma há maior religação do corante ao MIP do que ao NIP. E havendo uma retenção de até 2 vezes maior para o MIP.

Comumente, a quantidade de analito adsorvido é determinada por meio de medidas em solução (Figura 15), que resultam ser indiretas, pois utilizam o sobrenadante, induzindo normalmente a erros experimentais e podendo não fornecer um valor real para a adsorção do analito. Na literatura ainda não são reportados experimentos que utilizam adsorção diretamente no polímero sólido,

assim neste trabalho utilizou-se o módulo de reflectância (R) com o Barrelino de forma inédita, permitindo obter valores diretos da espécie adsorvida no material adsorvente.

4.4.1 Reflectância e análise do sólido (precipitado) gerado através do teste de ligação pelo método de precipitação.

A partir disso, serão discutidos os resultados obtidos diretamente nos sólidos adsorventes referentes ao teste de ligação da Tartrazina nestes materiais. As Figuras 16 e 17 nos mostram dois espectros referentes a MIP e NIP com uma porcentagem de reflectância em função do comprimento de onda no intervalo de 200 a 800 nm, no qual houve uma variação da concentração de Tartrazina de 1,0 a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$

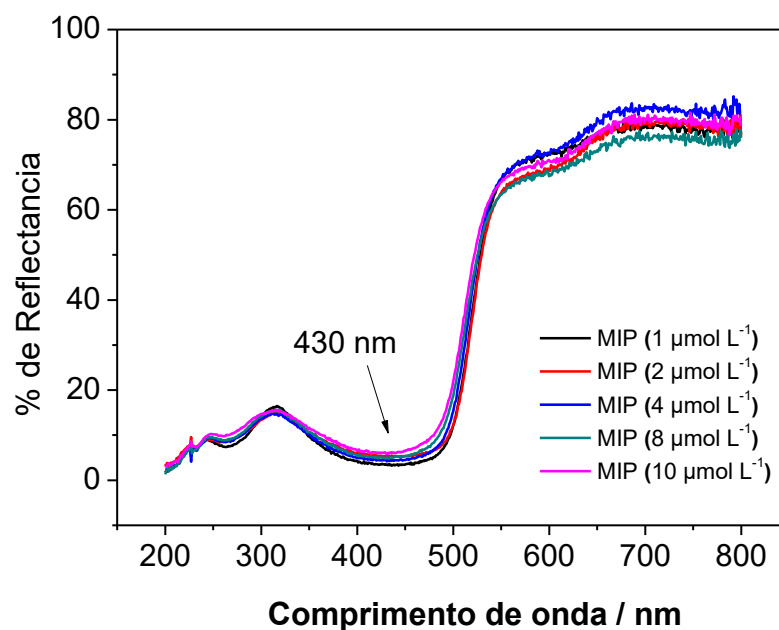


Figura 16 - Espectros de reflectância no intervalo de 200 nm a 800 nm em diferentes concentrações de Tartrazina (1,2,4,8,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) adsorvidas no MIP estudado.

Fonte: autor do trabalho

Pode-se observar na Figura 16, que a maior porcentagem de reflectância foi adquirida no comprimento de onda de 430 nm onde ocorre a absorvidade molar máxima do analito. Neste comprimento de onda houve uma porcentagem pequena de reflectância em torno de 5% (Tabela 5) entre as concentrações estudadas. Isso

se deve ao fato do material praticamente não apresentar reflexão, devido à adsorção do corante no material adsorvente

Tabela 5 - Porcentagem de Reflectancia do solido MIP para o corante Tartrazina em diferentes concentrações (1 a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) no comprimento de onda de 430 nm.

$C_{\text{Tartrazina}} / \mu\text{mol L}^{-1}$	% de reflectância
1	3,53
2	5,47
4	4,35
8	4,91
10	6,03

Fonte: autor do trabalho.

Já para o NIP (Figura 17) conforme aumenta-se a concentração de 1 até 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ observa que a porcentagem de reflectância varia, embora não quantitativamente (Tabela 6), entre 15 a 40%. Provavelmente devido à maior reflectância do NIP, por não adsorver eficientemente o analito.

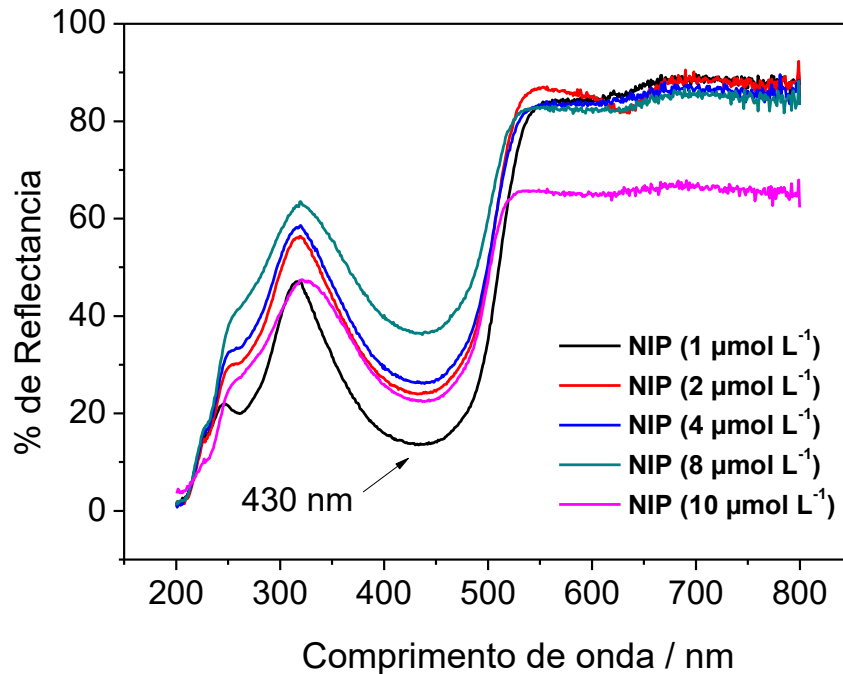


Figura 17 - Espectros de reflectância no intervalo de 200 a 800 nm em diferentes concentrações de Tartrazina (1, 2, 4, 8, 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) adsorvidas no NIP estudado.
Fonte: autor do trabalho.

Tabela 6. Porcentagem de Reflectância do sólido NIP para o corante Tartrazina em diferentes concentrações (1 a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) no comprimento de onda de 430 nm.

$C_{\text{Tartrazina}} / \mu\text{mol L}^{-1}$	% de reflectância
1	13,55
2	24,10
4	26,31
8	37,03

Fonte: autor do trabalho.

Com essas informações foi possível obter o gráfico da porcentagem de reflectância em função das concentrações de polímero tanto para MIP quanto NIP, conforme mostra a Figura 18. Com isso podemos fortalecer o ideal de reflexão e adsorção desses materiais.

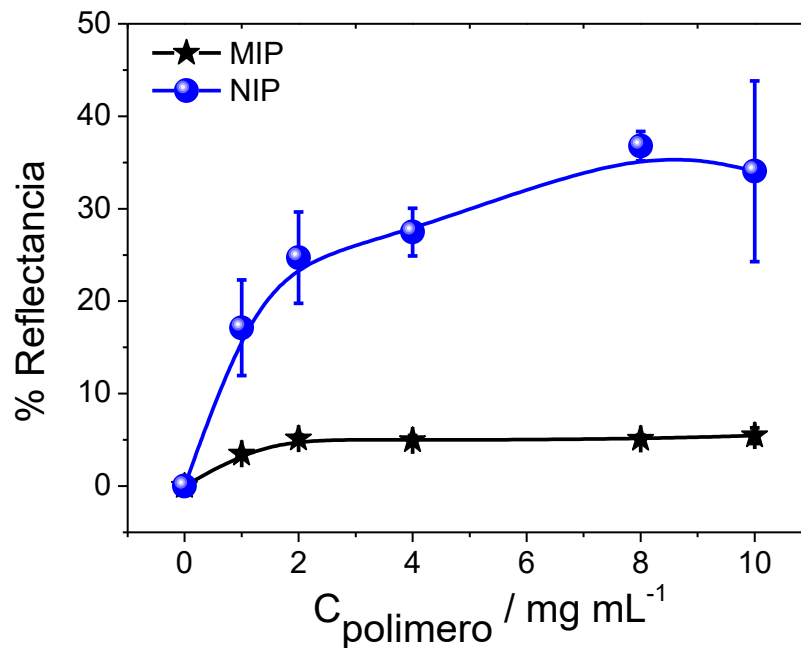


Figura 18 - Medidas de reflectância diretamente no sólido contendo o analito adsorvido em diferentes concentrações para MIP e NIP. Para uma concentração inicial de Tartrazina $10 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Fonte: autor do trabalho.

Pode-se observar na Figura 18 que o MIP apresenta um valor de porcentagem de reflectância em torno de 3% para todo o intervalo de concentração polimérico estudado; isso se deve ao fato de que o corante Tartrazina foi adsorvido pelo MIP.

Com o intuito de fazer um estudo comparativo entre as Figuras 18 e a Figura 14, e comprovar que ambas apresentam seu valor complementar de ligação do MIP, Temos uma expressão que esboça com clareza essa perspectiva:

$$\% \text{ em solução} + \% \text{ remanescente no sólido} = 100\% \text{ (Equação 4)}$$

MIP: 3% adsorvido e medido diretamente no sólido (Figura 18) + 97% medido indiretamente na solução (Figura 14), destacando que essa expressão tem que nos retornar um valor final de 100%.

Desta forma, pode-se concluir que os testes que visaram medir diretamente a quantidade de analito adsorvido nos polímeros foram bem-sucedidos, ao mesmo tempo em que o polímero sintetizado apresentou alta porcentagem de religação do analito, mostrando ser altamente eficiente.

Já para o NIP ocorreu um aumento gradual na porcentagem de reflectância, atingindo um valor próximo a 30% nas concentrações superiores, conforme

podemos observar na Figura 18. Concomitante a isso, pode-se observar na Figura 13, que o NIP apresentou um valor de porcentagem de ligação próximo a 70% também nas concentrações superiores. Com isso, ao realizar a comparação entre a porcentagem obtida por absorção (indireta) e a porcentagem obtida diretamente no sólido também alcança o 100% do total da quantidade de analito em solução.

NIP: 70% obtido por absorbância na solução + 30% obtido por reflectância no sólido = 100% (na maior concentração).

Diante disso, pode-se afirmar que os resultados obtidos para todos os materiais adsorventes foram satisfatórios, validando o uso de medidas de reflectância diretamente no sólido contendo o analito adsorvido.

Com a finalidade de monitorar a reflectância dos polímeros e de obter imagens dos sólidos (Figura 19), fixou-se a massa de 1,0 mg dos polímeros para execução das análises empregando o Barrelino.

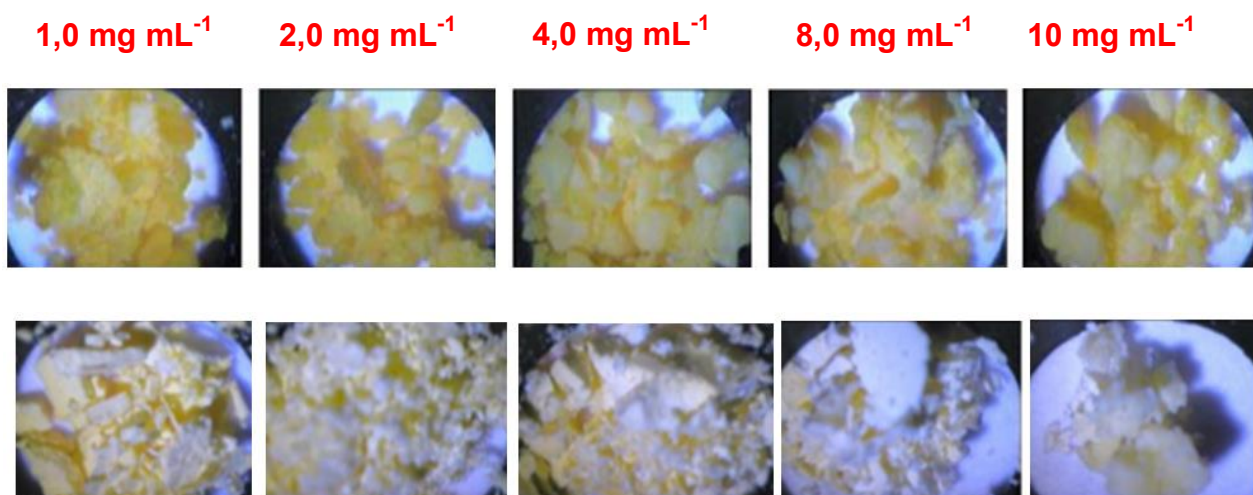


Figura 19 - Aparência das diferentes quantidades de MIP (acima) e NIP (abaixo) registradas no “Barrelino®” utilizando o corante Tartrazina e variando a quantidade de polímero de 1,0 mg mL⁻¹ a 10 mg mL⁻¹, e a massa de polímero empregada para o estudo foi de 1 mg.

Fonte: autor do trabalho

Pode se observar para o MIP uma coloração amarela intensa em todos os polímeros e para todas as concentrações estudadas, evidenciando que houve uma alta adsorção do corante Tartrazina às cavidades do polímero.

Já para o NIP, conforme se aumenta a concentração do polímero, menos Tartrazina é adsorvida às cavidades do polímero, devido a uma menor capacidade de adsorção do analito, ou seja, o NIP apresenta uma alta reflectância.

Diante disso, este resultado é muito importante neste trabalho, pois demonstra em tempo real que o MIP adsorveu melhor o analito sob as mesmas condições que o NIP, indicando a eficiência do polímero sintetizado e da técnica utilizada.

4.5. Obtenção da isoterma de adsorção através de experimentos de reflectância em sólidos

Nesta etapa, visando obter uma isoterma de adsorção usando diretamente a medida nos sólidos MIP e NIP, foi construído o gráfico usando os valores de reflectância em função de diversas concentrações de analito; 2,5; 5,0; 7,5; 10; 25; 50; 100; 200 e 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$; conforme mostrado na Figura 20.

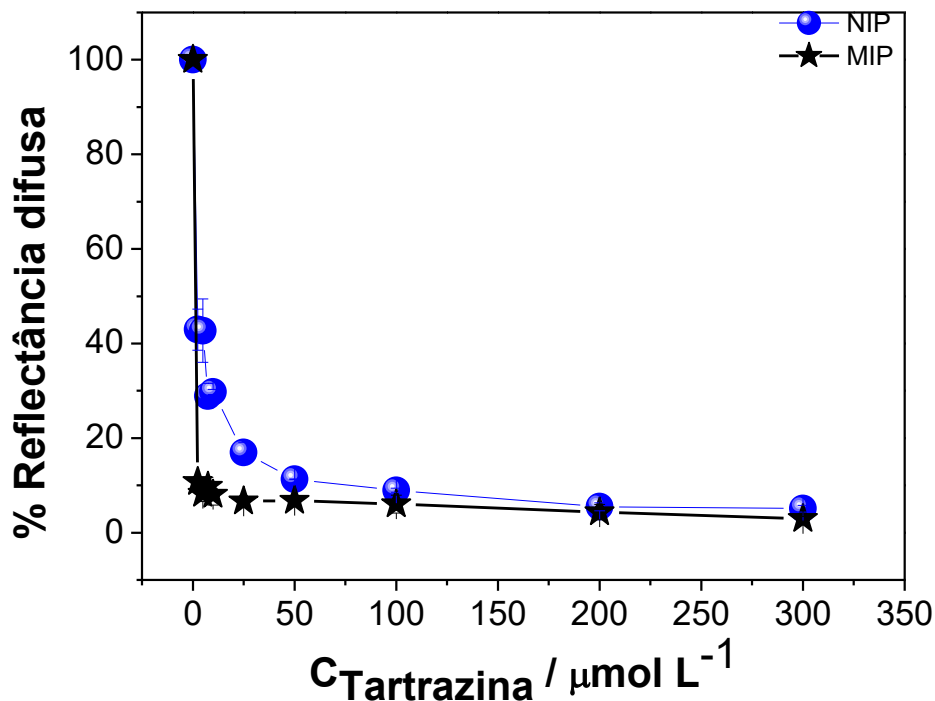


Figura 20 - Perfil da reflectância para os sólidos MIP e NIP em diferentes concentrações de analito (2,5 a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

Fonte: autor do trabalho.

Inicialmente para o MIP pode-se observar uma reflectância com valores bem menores que para o NIP no intervalo de concentração até 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Tabela 7). Isso, provavelmente, se deve ao fato do MIP adsorver mais eficientemente o analito

do que o NIP, o que pode ser explicado pelas cavidades seletivas no polímero impresso e verificado na Figura 20.

Tabela 7 - Porcentagem de reflectância para MIP e NIP em concentrações mais baixas do corante Tartrazina.

$C_{\text{Tartrazina}}/\mu\text{mol L}^{-1}$	% Reflectância MIP	% Reflectância NIP
2,5	10,77	42,93
5	8,244	42,71
7,5	9,733	28,90
10	8,061	29,74
25	6,635	16,94

Fonte: autor do trabalho.

Com o intuito de visualizar a aparência dos polímeros após os estudos da isoterma de adsorção e analisar o poder de adsorção e reflectância do analito junto às cavidades do MIP e NIP, foram registradas as imagens dos materiais obtidos (Figura 21) pelo Barreliño.

Pode-se observar para o MIP uma coloração amarela intensa para todo o intervalo de concentração estudado, verificando assim a adsorção do analito às cavidades específicas do polímero.

Já para o NIP não ocorreu o mesmo, como pode ser observado na Figura 21. O polímero começa a adsorver o corante a partir da concentração de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$, antes dessa concentração tem-se um NIP praticamente branco. Conforme a concentração de analito é aumentada, observa-se uma maior intensidade da coloração amarela no polímero devido às ligações não específicas.

A partir desses resultados, pode-se concluir que a técnica aqui usada é bastante inovadora e altamente promissora, no que diz respeito à caracterização de polímeros impressos, e permitiu a avaliação da eficiência do MIP de forma direta no sólido, fato ainda não relatado na literatura, e que poderá vir a se tornar uma caracterização da eficiência de adsorção destes polímeros impressos frente aos NIP. Adicionalmente foi comprovado que a reflectância e absorvância permitem estimar o valor de 100% da quantidade de analito presente em solução.

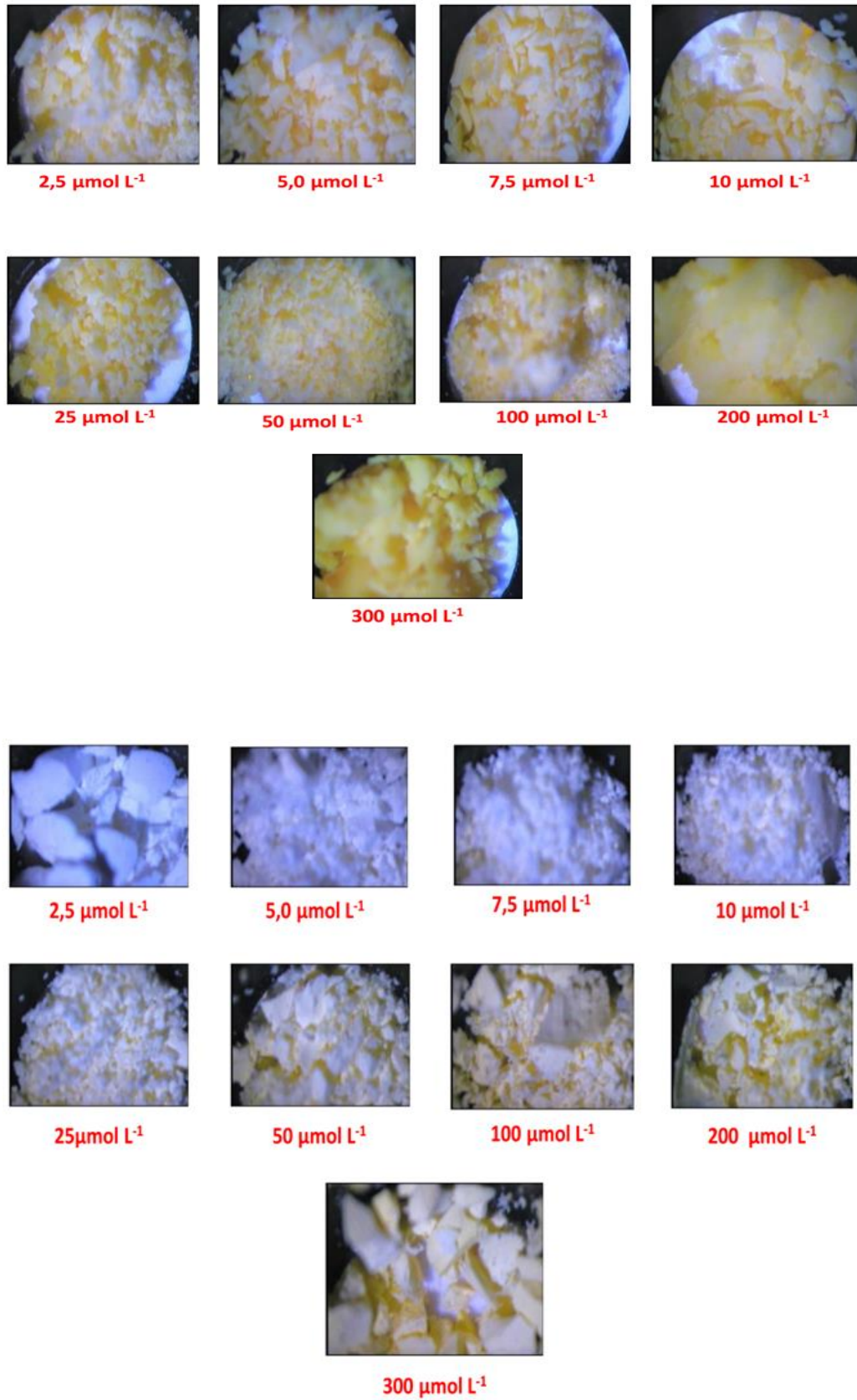


Figura 21 - Imagens dos sólidos MIP (acima) e NIP (abaixo) medidos no Barrelino® com variação na concentração de corante, 2,5 a 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e com massa de polímero de 1mg.
Fonte: autor do trabalho.

4.6. Teste controle positivo e obtenção da Isoterma de adsorção através do teste de reflectância em sólidos

Inicialmente foram realizadas duas medidas no módulo Barrelino acoplado ao espectrofotômetro UV-Vis da Agilent Technologies modelo Cary 60 em relação ao branco das amostras. A primeira medida foi entre o branco do equipamento (Barrelino) que consiste numa chapa circular branca, e a amostra de MIP pura e lavada. Já a segunda medida ocorreu entre o branco do equipamento (Barrelino) e a amostra de NIP pura e lavada.

O intuito dessas medidas foi para verificar a confiabilidade, juntamente se ocorrem discrepâncias em relação aos dois brancos para posteriores medidas do sobrenadante para a confecção de uma isoterma de adsorção, e, subsequentemente, a construção do gráfico de reflectância para as amostras sólidas medidas no módulo Barrelino. Na Figura 22 temos os resultados para as medidas do branco.

Pode-se observar a partir da Figura 22 que praticamente não ocorre nenhuma diferença entre a medida do branco do barrelino com os polímeros MIP e NIP puros e lavados (Figura 23), ou seja, as medidas de isoterma de adsorção e a reflectância nos sólidos pelo barrelino podem ser feitas a partir desses polímeros usados como sendo os respectivos brancos.

Desta forma, na Figura 24 são mostrados os resultados obtidos para as isotermas de adsorção, diretamente obtidas usando a reflectância difusa em sólidos, o qual é mostrado pela primeira vez para polímeros impressos. E na Figura 25 as isotermas de adsorção para a tartrazina em MIP e NIP.

Pode-se observar que no MIP já há uma reflectância de fundo, atribuída à tartrazina adsorvida, o qual não é observado no NIP uma vez que o analito não possui adsorção sobre este material.

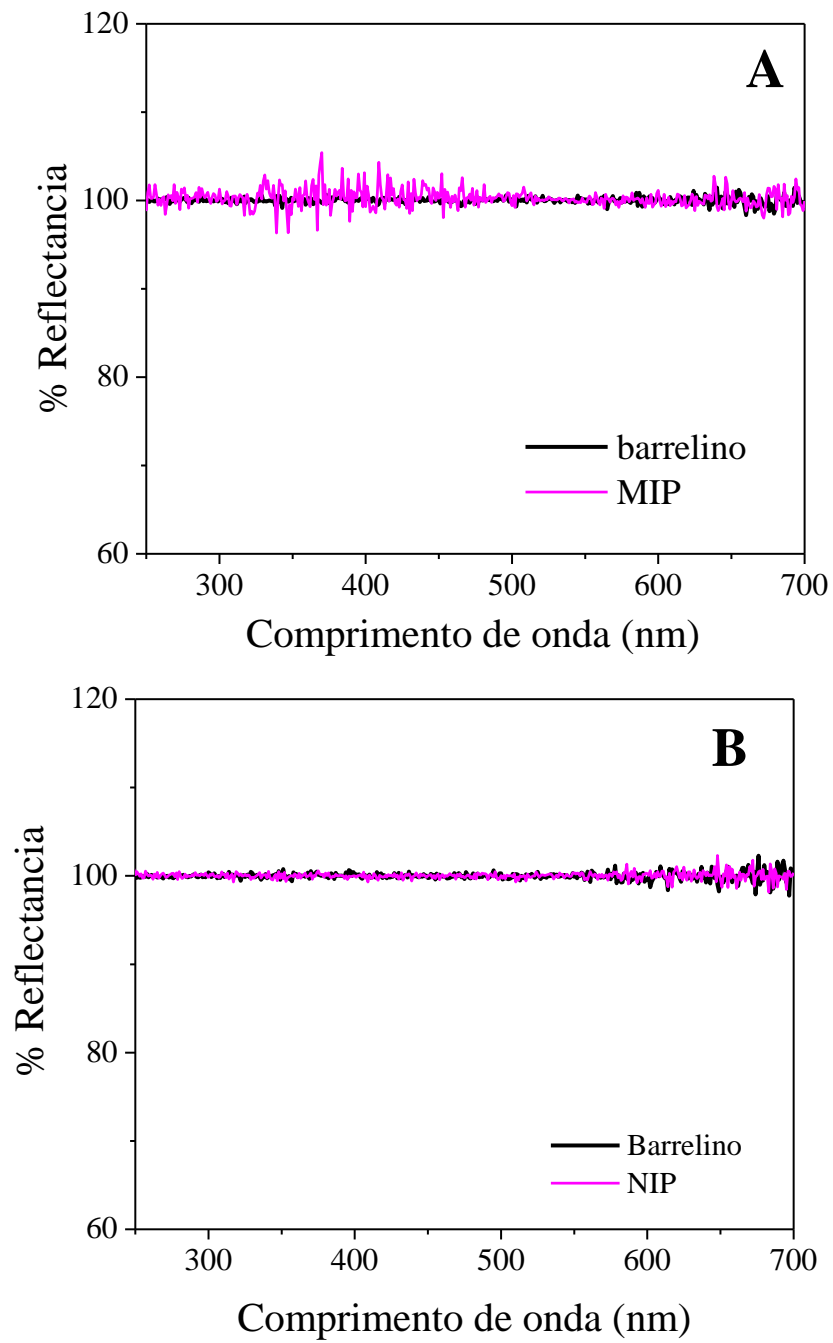


Figura 22. Medidas referentes ao branco do Barrelino com MIP (a) e NIP (b) puros e lavados.

Fonte: autor do trabalho.

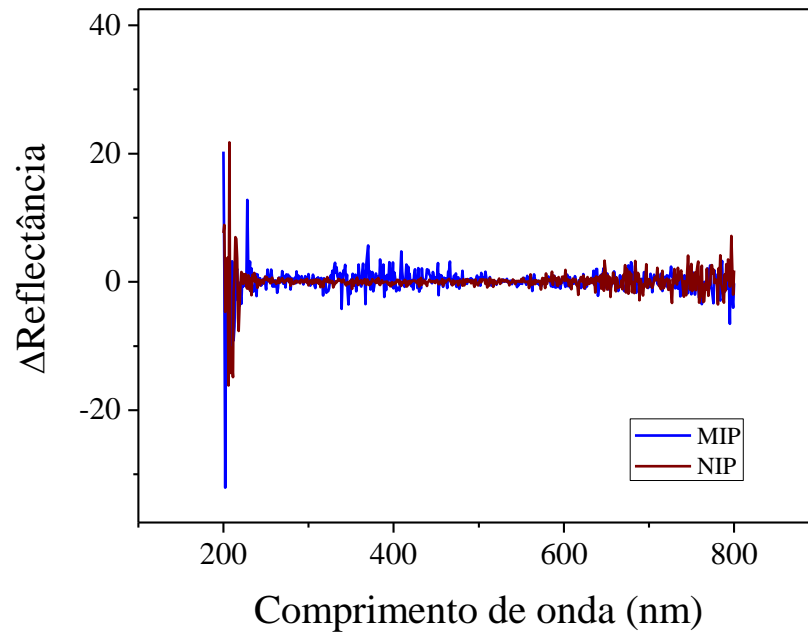


Figura - 23. Variação de reflectância ao branco entre MIP e NIP puros e lavados.
Fonte: autor do trabalho.

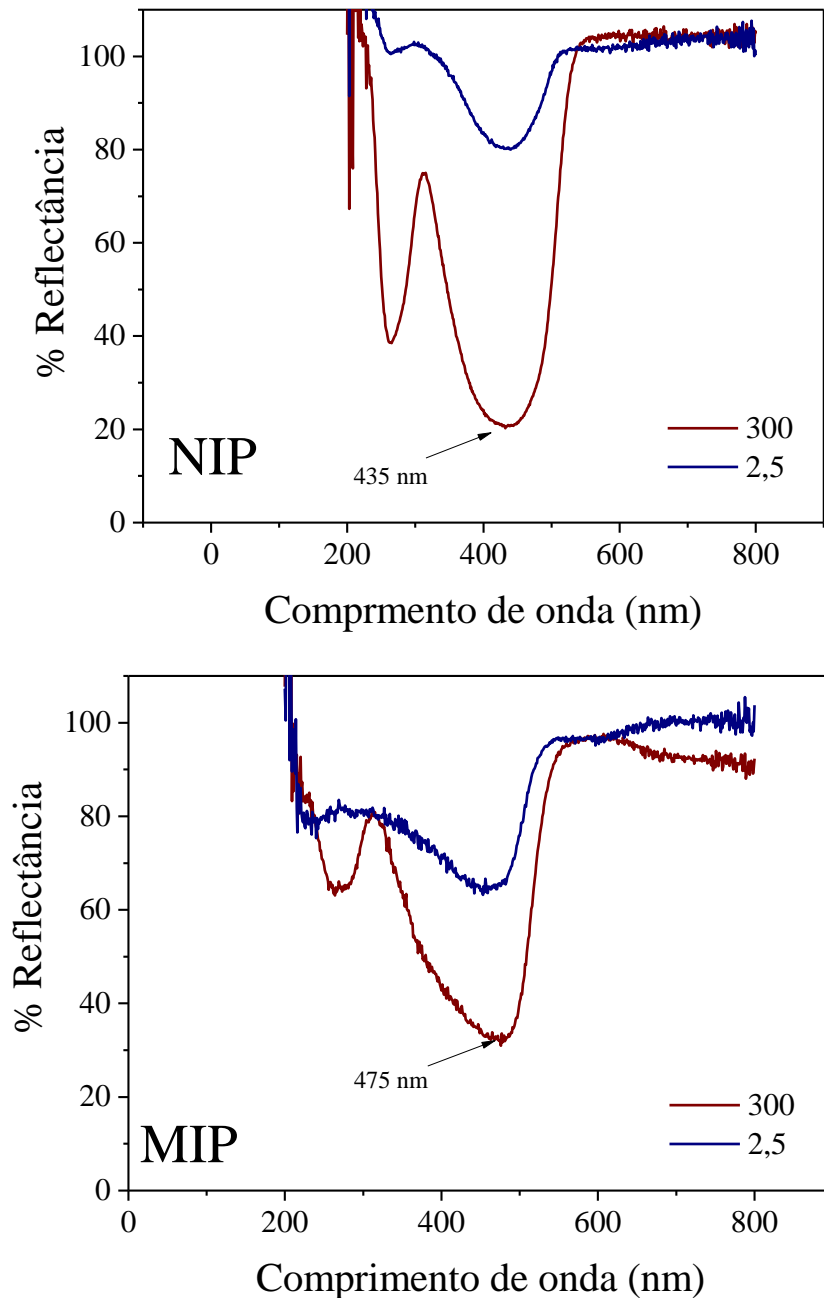


Figura - 24 Espectros de reflectância difusa obtidos para o NIP e MIP respectivamente na adsorção das duas concentrações extremas aqui avaliadas.

Fonte: autor do trabalho.

Na Figura 25 são mostradas as respectivas curvas de reflectância difusa em relação às diferentes concentrações de Tartrazina. Pode ser observado, que o MIP reflete menos que o NIP, uma vez que ocorre maior adsorção do analito no polímero impresso, e tal como pode ser corroborado na Figura 26, dos materiais avaliados na adsorção do analito. Mostrando, pela primeira vez, segundo nosso conhecimento, o uso da reflectância difusa de sólidos na caracterização de um MIP.

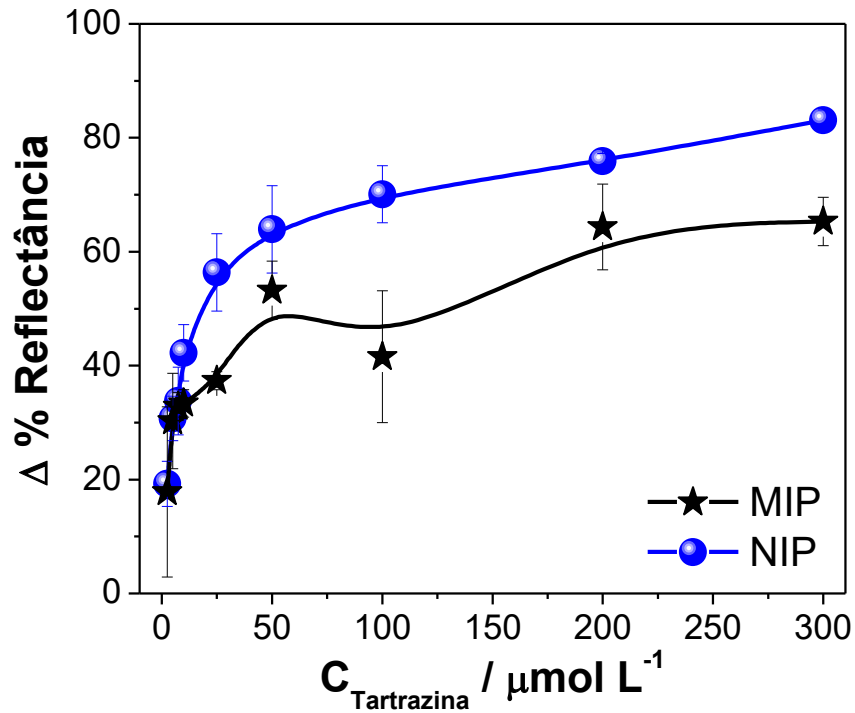


Figura - 25 Curvas de adsorção em função da concentração de tartrazina para os polímeros estudados.

Fonte: autor do trabalho.

A Figura 26 mostra as respectivas isotermas de adsorção obtidas com a quantificação indireta de Tartrazina em solução usando a espectrofotometria UV-Vis. Pode-se observar que no caso do NIP, na faixa entre 0 - 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tartrazina, os valores de Q apresentam valores negativos, e que acima de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ os valores de Q são maiores que para os MIP, ao mesmo tempo em que para 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ o valor da absorbância obtido diminui, o qual não segue a tendência mostrada na Figura 25. Indicando que as medidas indiretas conduzem à obtenção de resultados errôneos, uma vez que todas as evidências até aqui mostradas, tanto para o MIP e o NIP, indicam outro comportamento. Desta forma, os resultados aqui mostrados, abrem a possibilidade à aplicação da reflectância difusa de sólidos como uma alternativa direta, simples e mais adequada para a caracterização deste tipo de material adsorvente.

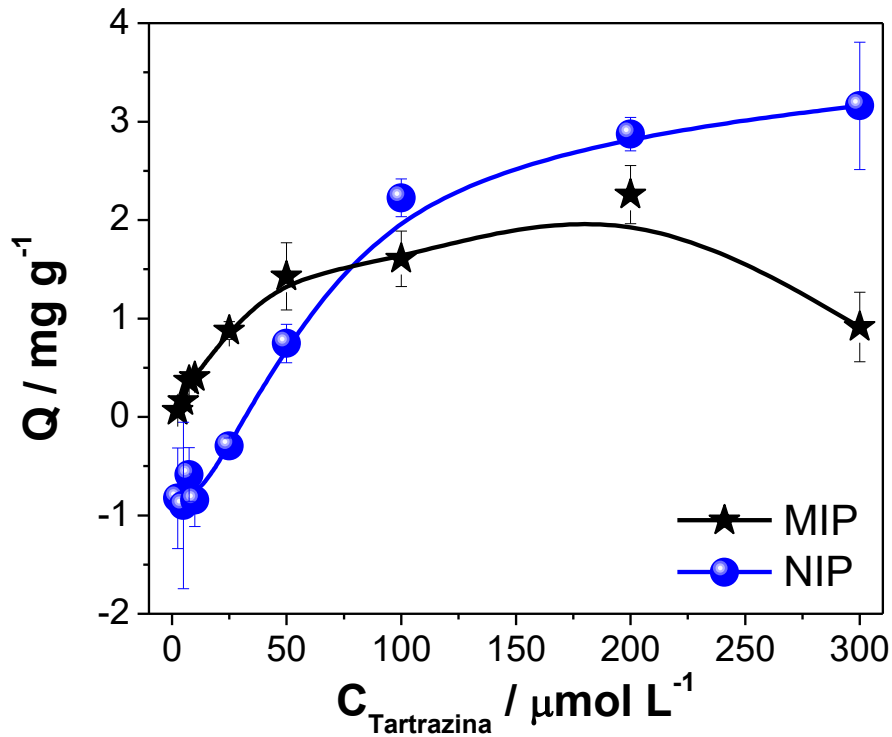


Figura - 26. Isoterma de adsorção para tartrazina entre MIP e NIP, obtidas indiretamente usando UV/Vis.
Fonte: autor do trabalho.

Por outro lado, até $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 26) a tendência da isoterma de adsorção da Tartrazina no MIP apresenta um ajuste hiperbólico com $R^2 = 0,97086$, que indica que a adsorção da Tartrazina segue o modelo “one site binding” (59) cujos pontos se ajustam matematicamente à seguinte equação:

$$Q = \frac{Q_{max} C_{TAR}}{K_d + C_{TAR}} \quad (\text{Equação 5})$$

$$Q = \frac{(2,90 \pm 0,37) C_{TAR}}{(6,2 \times 10^{-5} \pm 1,1 \times 10^{-5}) + C_{TAR}} \quad (\text{Equação 6})$$

É possível estimar o valor da constante de afinidade entre o material adsorvente e o analito, sendo neste caso $1,6 \times 10^4 \text{ L } \mu\text{mol}^{-1}$, indicando que a interação entre o MIP e a Tartrazina é alta.

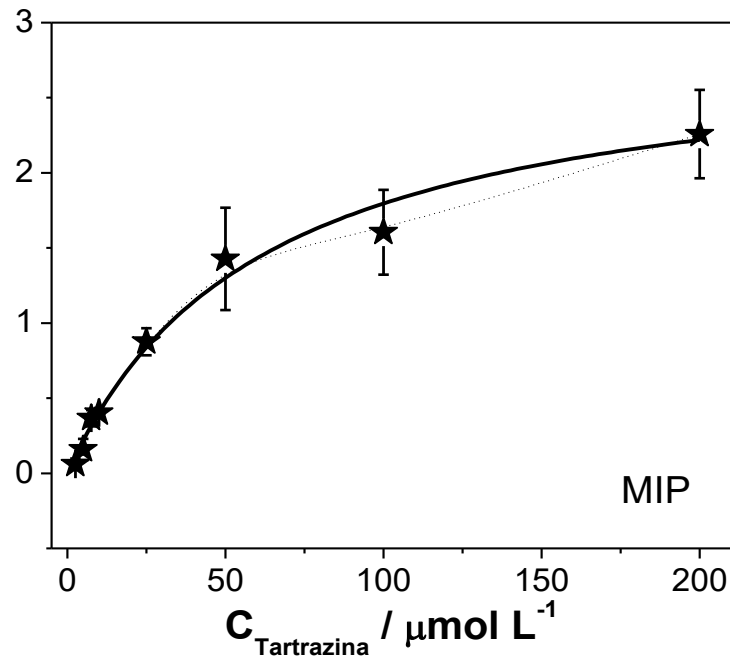


Figura - 27. Isoterma de adsorção para tartrazina do MIP até $200 \mu\text{mol L}^{-1}$.
Fonte: autor do trabalho.

Finalmente, visando avaliar a eficiência do MIP em relação ao NIP, usando os valores de Q para MIP e NIP na concentração de tartrazina de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ das Figuras 26 e 27, foi calculado o coeficiente de partição (K_p) e o fator de impressão (I) segundo as seguintes equações:

$$K_p = \frac{Q}{C_1} \quad (\text{Equação 7})$$

$$I = \frac{K_{p,MIP}}{K_{p,NIP}} \quad (\text{Equação 8})$$

Obtendo-se um valor de 2,67, mostrando a eficiência na adsorção do MIP em relação ao NIP, consequência das cavidades seletivas no material impresso.

4.7 Imobilização do MIP e NIP por oclusão utilizando a fibra óptica de PMMA

As fibras ópticas poliméricas (FOP) são filamentos flexíveis e transparentes fabricados a partir de vidro ou plásticos extruído, que é utilizado como condutor de elevado rendimento de luz, imagens ou pulsos codificados (60). Por ser um material que não sofre interferências eletromagnéticas apresentam vantagens em relação a outras fibras, como a fibra óptica de sílica (FOS), devido à flexibilidade, maior abertura numérica, maiores diâmetros, que facilitam as conexões, menor custo de fabricação e instalação. Entretanto, as FOP possuem alta atenuação do sinal transmitido quando comparadas às FOS. Por isso, suas principais aplicações estão limitadas a curtas distâncias, tais como: redes locais, eletrônica de veículos, automação industrial, sensores, guias de luz e displays. (60)

O PMMA - poli(metacrilato de metila) é o material mais comum usado no núcleo de dispositivos ópticos, pois apresenta melhores propriedades ópticas dentre os outros polímeros ópticos, como o: PS (poliestireno) e PC (policarbonato). (61)

A imobilização de MIP ou NIP sobre a superfície da fibra óptica de PMMA foi realizada utilizando Nafion® e *N-N'*-dimetilformamida na superfície da fibra óptica. Foram avaliados os polímeros sintetizados para o corante Tartrazina e realizado um único tipo de imobilização desses polímeros sobre a superfície da fibra óptica, pelo método de oclusão.

Desta forma, após a imobilização dos polímeros sobre a fibra óptica, as análises de ligação foram realizadas com adições sucessivas da solução padrão do corante em água. A cada adição do corante Tartrazina, deixou-se o analito interagir com o polímero imobilizado à fibra durante 10 minutos sob agitação suave. Foi utilizada a massa de 6 mg de MIP e NIP, cujo resultado é apresentado na Figura 28.

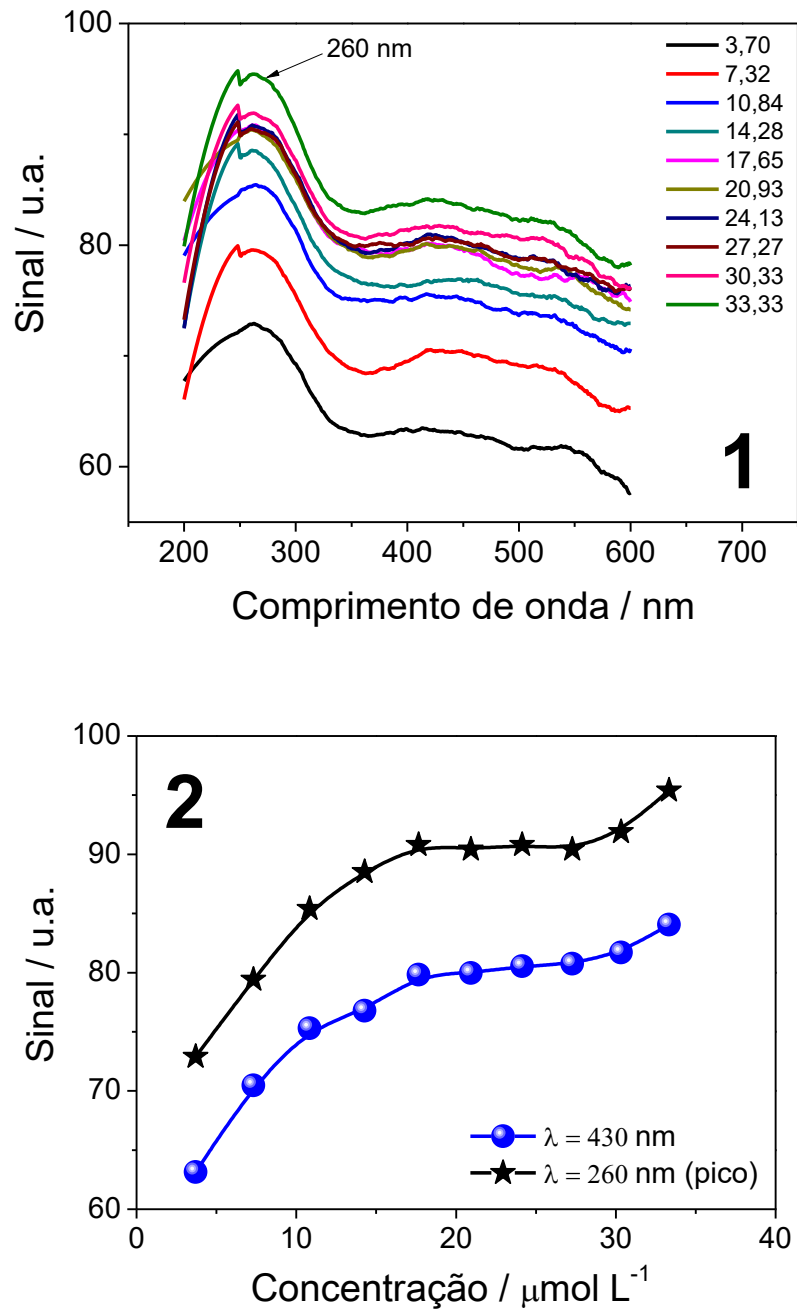


Figura 28 – Sinais ópticos obtidos para a fibra óptica modificada com 6 mg de MIP (1); e a respectiva curva analítica da reflectância em função da concentração de analito no intervalo estudado de 3,70 a 33,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (2)

Fonte: autor do trabalho.

Observando a Figura 28, no comprimento de onda de 260 nm houve o aparecimento de um pico com gradual incremento da reflectância conforme aumenta a concentração. Observa-se também que esta relação se mantém para o

comprimento de onda de 430 nm, e que em ambas as concentrações o perfil de % Reflectância vs a concentração é praticamente o mesmo.

Para fins de comparação a Figura 29 mostra os resultados obtidos pelo sensor usando 6 mg de NIP na fase sensora.

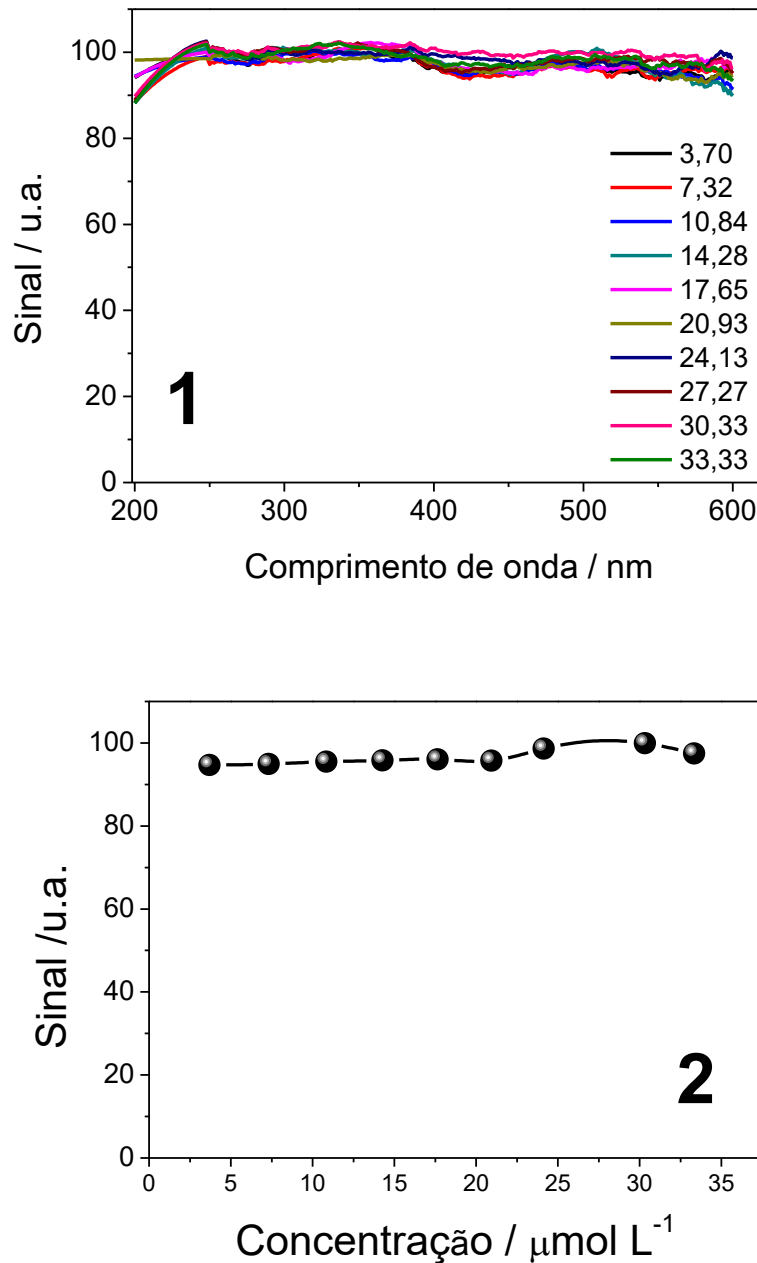


Figura 29 - Sinais ópticos obtidos para a fibra óptica modificada com 6 mg de NIP (1); e a respectiva curva analítica da Reflectância em função da concentração de analito no intervalo estudado de 3,70 a 33,3 µmol L⁻¹.

Fonte: autor do trabalho.

Observa-se que o sensor à base de MIP mostrou resultados promissores, uma vez que ao ser comparado com a fibra óptica modificada com NIP, o primeiro conseguiu identificar a variação da concentração do corante.

Isso mostra que uma massa de 6 mg de MIP na superfície da fibra óptica oferece um resultado que deverá continuar a ser otimizado em estudos posteriores.

5. CONCLUSÕES

O polímero molecularmente impresso sintetizado pelo método em “bulk” não apresentou resultados satisfatórios. Porém o MIP sintetizado pelo método de precipitação apresentou grande eficiência na determinação do corante Tartrazina, tal como mostrado nos estudos de religação por absorbância de solução e por reflectância do sólido, que pode ser mostrado de forma inédita. Com a vantagem de verificar qual seria o MIP imobilizado na superfície de fibras ópticas.

Já a imobilização sobre a fibra óptica via oclusão mostrou que usando 6 mg de MIP como fase sensora, obtiveram-se resultados promissores que poderão ser explorados em perspectivas futuras para a aplicação em sensores ópticos para a determinação do corante Tartrazina em amostras alimentícias.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Para conclusão desse trabalho as etapas a serem realizadas incluem:

- Aplicação em amostra real de alimentos ou bebidas usando o polímero impresso proposto em extração em fase sólida.
- Concluir a otimização do sensor para a aplicação do sensor em amostra de alimentos.
- Executar algumas caracterizações para avaliar o desempenho do material como: BET, MEV e RMN.
- Fazer um estudo de seletividade.

REFERÊNCIAS

- 1 PEZZOLO, D. B. **Tecidos: história, tramas e usos**. São Paulo: Ed. Senac São Paulo, 2007. 324 p.
- 2 BLAINEY, G. **Uma breve história do mundo**. São Paulo: Fundamento Educacional, 2004. 270 p.
- 3 MIRJALILI, M.; NAZARPOOR, K.; KARIMI, L. Eco-friendly dyeing of wool using natural dye from weld as co-partner with synthetic dye. **Journal of Cleaner Production**, v. 19, p. 1045-1051, 2011.
- 4 LIMA, A. L. dos S.; PEREIRA, M. H. G.; PINTO, L. H. P. A. da C. Corantes sintéticos: a química das cores. **Revista Química Textil**. Disponível em: <<http://www.abqct.com.br/artigost/artigoesp14.pdf>>. Acesso em: 25 maio 2017.
- 5 ABRAHANT, E. N. **Dyes and their intermediates**. London: Edward Arnold, 1977. 265 p.
- 6 PETERS, R. H. **Textile chemistry**. Amsterdam: Elsevier. 1963. 490 p. The chemistry fibers, v. 1.
- 7 ALBUQUERQUE, J. C. **Avaliação da descoloração de águas residuárias contendo corantes têxteis sintéticos, usando H₂O₂/UV**. 2016. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.
- 8 GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, p. 71-78, 2000.
- 9 KUNZ, A. et al. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, p. 78-82, 2002.
- 10 MICIC, R. J. et al. Application of tartrazine for sensitive and selective kinetic determination of Cu (II) traces. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 69, n. 12, p. 1147-1152, 2014.
- 11 TANAKA, T. et al. Effects of tartrazine on exploratory behavior in a three-generation toxicity study in mice. **Reproductive Toxicology**, v. 26 n. 2, p. 156-163, 2008.
- 12 WAWRZKIEWICZ, M.; HUBICKI, Z. Removal of tartrazine from aqueous solutions by strongly basic polystyrene anion exchange resins. **Journal of Hazardous Materials**, v. 164 n. 2/3, p. 502-509, 2008.
- 13 COLLINS-WILLIAMS, C. Clinical spectrum of adverse reactions to tartrazine. **Journal of Asthma**, v. 22, p. 139-143, 1985.

14 DIPALMA, J. R. Tartrazine sensitivity. **American Family Physicen**, v. 42, n. 5, p. 1547-1550, 1990.

15 CUIDADO com a alergia a Tartrazina. **Líbbero Alimentos**. Disponível em: <<http://www.liberoalimentos.com.br/2012/02/cuidado-com-a-alergia-a-tartrazina>>. Acesso em: 25 maio 2017.

16 DANTAS, K. C. F. **Desenvolvimento de método quimiométrico baseado em análise de imagens digitais para a quantificação dos corantes amarelo crepúsculo e tartrazina em bebidas**. 2015. 109 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

17 PRADO, M. A.; GODOY, H, T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, n. 2, p. 237-250, 2003.

18 LEÓN-RODRIGUEZ, L. M. de; BASUIL-TOBIAS, D. A. Testing the possibility of using UV-vis spectrophotometric, techniques to determine non-absorbing analytes by inclusion complex competition incyclodextrins. **Analytica Chimica Acta**, v. 543, n. 1/2, p. 282-290, 2005.

19 MA, M. et al. Simultaneous determination of water soluble and fat-soluble synthetic colorants in food stuff by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1103, p. 170-176, 2005.

20 RYVOLOVÁ, M. et al. Combined contactless conductometric, photometric, and fluorimetric single point detector for capillary separation methods. **Analytical Chemistry**, v. 82, p. 129-135, 2006.

21 NI, Y.; BAI, J.; JIN, L. Simultaneous adsorptive voltammetric analysis of mixed colorants by multivariate calibration approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 329, p. 65-72, 1996.

22 SAHRAEI, R.; FARMANY, A; MORTAZAVI, S, S. A nanosilver-based spectrophotometry method for sensitive determination of tartrazine in food samples. **Food Chemistry**, v. 138, n. 3 p. 1239-1242, 2013.

23 VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. do C. E. Espectrofotometria derivativa: uma estratégia simples para a determinação simultânea de corantes em alimentos. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 230-233, 2006.

24 DORRAJI, P.; JALALI, F. Electrochemical fabrication of a novel ZnO/cysteic acid nanocomposite modified electrode and its application to simultaneous determination of sunset yellow and tartrazine. **Food Chemistry**, v. 227, p. 73-77, 2017.

- 25 GHOREISHI, S. M.; BEHPOUR, M.; GOLESTANEH, M. Simultaneous determination of sunset yellow and tartrazine in soft drinks using gold nanoparticles carbon paste electrode. **Food Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 637-641, 2012.
- 26 LIU, F, J. et al. Dispersive solid-phase microextraction and capillary electrophoresis separation of food colorants in beverages using diamino moiety functionalized silica nanoparticles as both extractant and pseudostationary phase. **Talanta**, v. 132, p. 366-372, 2015.
- 27 PRADO, M. A. **Desenvolvimento e comparação de técnicas analíticas, cromatografia a líquido de alta eficiência e eletroforese capilar, na determinação de corantes artificiais**. 2003. 130 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- 28 YARIPOUR, S.; MOHAMMADI, A. Electromembrane extraction of tartrazine from food samples: effects of nano-sorbents on membrane performance. **Journal of Separation Science**, v. 39, n. 13, p. 2642-2651, 2016.
- 29 BAZREGAR, M. et al. Improved in-tube electro-membrane extraction followed by high-performance liquid chromatography for simple and selective determination of ionic compounds: optimization by central composite design. **Journal of Separation Science**, 2017. doi:10.1002/jssc.201700364.
- 30 FIROOZ, A. R. et al. Development of a highly sensitive and selective optical sensor for determination of ultra-trace amount of silver ions. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 176, p. 598-604, 2013.
- 31 HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, p.1247-1250, 1991.
- 32 NEUMAN, M. R. Physical and chemical sensors for medical instrumentation. **Medical Progress Technology**, v. 9, p. 95-104,1982.
- 33 TAITT, C. R.; ANDERSON, G. P.; LIGLER, F. S. Evanescent wave fluorescence biosensors: advances of the last decade. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 76, p. 103-112, 2016.
- 34 SOTOMAYOR, M. P. T. **Construção e aplicação de optodos em sistemas analíticos baseados em variações de pH**. 2000. 188 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- 35 CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnologia e engenheiros**. 2. ed. São Paulo: Artiber, 2006. 280 p.

- 36 NG, S. M.; NARAYANASWAMY, R. Molecularly imprinted sensing receptors. LEE, S.-W.; KUNITAKE, T. (Ed.). **Handbook of molecular imprinting**: advanced sensor applications., Boca Raton: Pan Stanford Publishing, 2012. Chap. 2, p. 65-116.
- 37 VERLI, H.; BARREIRO, E. J. Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores. **Química Nova**, v. 28, p. 95-102, 2005.
- 38 TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; KUBOTA, L. T. Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 1: preparo e aplicação de MIP ("Molecularly Imprinted Polymers") em técnicas de extração e separação. **Química Nova**, v. 28, p. 1076-1086, 2005.
- 39 POLIMERO de impressão molecular. **De Olho na Análise**, set. 2011. Disponível em: <<http://www.liberalimentos.com.br/2012/02/cuidado-com-a-alergia-atarrazina>>. Acesso em: 26 maio 2017.
- 40 ALEXANDER, C. Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003. **Journal of Molecular Recognition**, v. 19, n. 2, p. 106-180, 2006.
- 41 MARTÍNEZ SAAVEDRA, L. N. **Síntese de polímeros molecularmente impressos para adsorção seletiva de quinolona em matriz orgânica**. 2017. 124 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.
- 42 PEÇANHA, B. R. B. **Síntese de polímeros de impressão molecular e sua aplicação na técnica de extração em fase sólida**. 2012. 61 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Monitoramento de Produtos para a Saúde) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.
- 43 SOUSA, M. D.; BARBOSA, C. M. Polímeros com capacidade de reconhecimento molecular no controlo da libertação de fármacos. Parte 1: síntese e caracterização. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1609-1619, 2009.
- 44 CORMACK, P. A. G.; ELORZA, A. Z. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterization. **Journal of Chromatography B**, v. 804, p. 173-182, 2004.
- 45 ITURRALDE, I.; PAULIS, M.; LEIZA, J. R. The effect of the crosslinking agent on the performance of propranolol imprinted polymers. **European Polymer Journal**, v. 53, p. 282-291, 2014.
- 46 KAREUHANON, W. et al. Synthesis of molecularly imprinted polymers for nevirapine by dummy template imprinting approach. **Cromatographia**, v. 70, p. 1531-1537, 2009.

47 FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C. B.; ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 361-375, 2008.

48 SANTOS, W. J. R. et al. Synthesis, characterization and kinetics of catalytically active molecularly imprinted polymers for the selective recognition of 4-aminopheno. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 5, p. 820-825, 2009.

49 PUOCI, F. et al. Molecularly imprinted solid phase extraction for detection of sudan I in food matrices. **Food Chemistry**, v. 93, p. 349-353, 2005.

50 LUO, X. et al. Removal of water soluble acid dyes from water environment using a novel magnetic molecularly imprinted polymer. **Journal of Hazardous Materials**, v. 187, p. 274-282, 2011.

51 LI, X. et al. Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers with modified rosin as a crosslinker and selective SPE-HPLC detection of basic orange II in foods. **Analytical Methods**, v. 6, p. 6397-6406, 2014.

52 MARESTONI, L. D. et al. Semi-empirical quantum chemistry method for pre-polymerization rational design of ciprofloxacin imprinted polymer and adsorption studies. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 109-118, 2015.

53 WONG, A. et al. Development of an electrochemical sensor modified with MWCNT-COOH and MIP for detection of diuron. **Electrochemical Acta**, v. 182, n. 9, p. 122-130, 2015.

54 FOGUEL, M. V. **Detecção e quantificação de corantes de importância ambiental empregando sensores químicos baseados em fibras ópticas e polímeros molecularmente impresso**. 2015. 180 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.

55 ARABZADEH, N. et al. Synthesis, characterization, and application of nano-molecularly imprinted polymer for fast solid-phase extraction of tartrazine from water environment. **Desalination and Water Treatment**, v. 54, n. 9, p. 2452-2460, 2013.

56 RUSCHEL, C.F.C et al. Análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) de blendas de biodiesel/diesel. **Química Nova**, v- 37, n-5, p. 810-815, 2014.

57 VALERO-NAVARRO, A. et al Synthesis of a novel polyurethane-based-magnetic imprinted polymer for the selective optical detection of 1-naphthylamine in drinking water. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, p. 4520-4525, 2011.

58 SPIVAK D. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly Imprinted polymers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 1779-1794, 2005.

- 59 UZURIAGA, R. et al. Synthesis of a new magnetic-MIP for the selective detection of 1-chloro-2,4-dinitrobenzene, a highly allergenic compound. **Materials Science & Engineering C: Biomimetic Materials, Sensors and Systems**, v. 74, p. 365-373, 2017.
- 60 VAN DEN BOOM, H. P. A. et al. High-capacity transmission over polymer optical fiber. **IEEE Journal of Select Topics in Quantum**, v. 7, n. 3, p. 461-470, 2001.
- 61 KOIKE, Y. Progress of plastic optical fiber technology. **Proceedings of European Conference on Optical Communicate**, v. 1, p. 41-48, 1996.