



Universidade Estadual Paulista
Instituto de Química - Araraquara



Gerson Alessandro Ruiz Córdoba

**ESTUDO SISTEMÁTICO DA SÍNTESE DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE
IMPRESSOS OBTIDOS PELO MÉTODO DE PRECIPITAÇÃO E DO TIPO
CORE@SHELL PARA DETERMINAÇÃO DE TARTRAZINA (YELLOW ACID 23)
VISANDO DESENVOLVIMENTO DE NOVOS MÉTODOS DE ANÁLISE**

**ARARAQUARA
2019**

GERSON ALESSANDRO RUIZ CÓRDOVA

**ESTUDO SISTEMÁTICO DA SÍNTESE DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE
IMPRESSOS OBTIDOS PELO MÉTODO DA PRECIPITAÇÃO E DO TIPO
CORE@SHELL PARA DETERMINAÇÃO DE TARTRAZINA (YELLOW ACID 23)
VISANDO DESENVOLVIMENTO DE NOVOS MÉTODOS DE ANÁLISE**

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

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

ARARAQUARA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

R934e Ruiz Córdova, Gerson Alessandro
Estudo sistemático da síntese de polímeros molecularmente impressos obtidos pelo método de precipitação e do tipo core@shell para determinação de tartrazina (yellow acid 23) visando desenvolvimento de novos métodos de análise / Gerson Alessandro Ruiz Córdova. – Araraquara: [s.n.], 2019
83 p.: il.

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

1. Corantes em alimentos. 2. Polímeros impressos.
3. Reflectância. 4. Silica vítreo. 5. Química de superfície.
I. Título

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Estudo sistemático da síntese de polímeros molecularmente impressos obtidos pelo método da precipitação e do tipo CORE@SHELL para determinação de tartrazina (YELLOW ACID 23) visando desenvolvimento de novos métodos de análise"

AUTOR: GERSON ALESSANDRO RUIZ CÓRDOVA

ORIENTADORA: MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Profª. Drª. MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Profª. Dra. MIRIAN CRISTINA DOS SANTOS
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. BRUNO CAMPOS JANEGITZ
Ciências da natureza, Matemática e Educação / Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR - Araras

Araraquara, 01 de março de 2019

DADOS CURRICULARES

DADOS PESSOAIS

Nome: Gerson Alessandro Ruiz Córdova

Data de Nascimento: 24 de agosto de 1991

Naturalidade: Lima

Nacionalidade: Peruana

Estado Civil: Solteiro

Filiação: Carmen Jesús Córdova Dávila e Orlando Ruiz Pinedo

ENDEREÇO PROFISSIONAL:

Rua Italia (Rua 7) 1299

Centro – Araraquara

São Paulo - Brasil

Telefone: (16) 99796-2428

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO:

2017 – 2019: Mestrado em Química (Conceito CAPES: 7) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Título: Estudo sistemático da síntese de polímeros molecularmente impressos obtidos pelo método da precipitação e do tipo core@shell para determinação de tartrazina (yellow acid 23) visando desenvolvimento de novos métodos de análise

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

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

2016 - 2017: Licenciatura em Química – Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), Lima, Lima, Peru.

Título: Determinación selectiva del contaminante ambiental 1-cloro 2,4-dinitrobenzeno basada en um magneto sensor electroquímico construido con polímero magnético de impresión molecular (m-MIP).

Orientador: Prof. Dr. Gino Italo Picasso Escobar.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria del Pilar Taboada Sotomayor.

2008 – 2014: Graduação em Química - Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), Lima, Lima, Peru.

ARTIGOS PUBLICADOS:

2017 - 2018: Publicação do artigo: “G.A. Ruiz-Córdova, S. Khan, L.M. Gonçalves, M.I. Pividori, G. Picasso, M.D.P.T. Sotomayor. Electrochemical sensing using magnetic molecularly imprinted polymer particles previously captured by a magneto sensor. *Talanta*, 181, 19-23, 2018.”

ESTAGIOS EXTRACURRICULARES E OUTRAS ATIVIDADES PROFISSIONAIS:

• **Laboratório de Análise de Aguas – “Certificaciones del Perú” (CERPER), La Perla, Callao, Peru.**

Período: agosto do 2014 a agosto do 2015

Atribuição: Análise de aguas residuais, aguas de mar, aguas de rio, agua potável e aguas de refinaria, de diversos analitos tais como: nitrato, nitrito, sulfeto, cloreto, cloro residual, dureza, acidez, DBO, DQO, sulfuro, cianeto, etc.

• **Auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidad Nacional de Ingeniería**

Período: agosto a dezembro de 2013

Atribuição: Preparação de Reagentes e Amostras para aulas universitárias de laboratório de físico-química.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS, CONGRESSOS, EXPOSIÇÕES E FEIRAS:

Palestra apresentado linha de pesquisa para Prof. Visitante no âmbito da colaboração tripartite TUM/QU/UNESP.

Período: 28 de fevereiro de 2018.

Participação no mini-curso: Selective determination of the environmental pollutant 1-chloro-2,4-dinitrobenzene based on an electrochemical magneto-sensor constructed

with magnetic molecularly imprinted polymer (m-MIP) – Synthesis of MIP for Tartrazine and determination using UV-VIS.

Período: 18 a 21 de setembro de 2016.

Apresentação do pôster “Determinación selectiva del alergénico 1-cloro-2,4-dinitrobenceno basada en um magnetosensor electroquímico usando polímero magnético de impresión molecular (m-MIP)” Ruiz, G.; Khan, S.; Sotomayor, M.D.P.T.; Picaso, G. no 18º Encontro Nacional de Química Analítica, Florianópolis, Brasil.

Período: 30 de julho a 01 de agosto de 2016.

Participação como palestrante no evento “XV Encuentro Científico Internacional de Invierno ECI 2016i”, Lima, Peru.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Orlando Ruiz e Carmen Córdova, que são meu apoio e alegria.

AGRADECIMENTOS

Eu quero agradecer a todos que foram parte fundamental na realização de minha tese. A meus pais, Orlando Ruiz e Carmen Córdova, por sempre me ter dado força e amor, a meu irmão, Leonardo Ruiz, que sempre procurava meu bem-estar.

À Prof.^a Dr.^a Maria Del Pilar Taboada Sotomayor pela grande oportunidade de executar esse mestrado e, principalmente, pelos ensinamentos profissionais e pessoais que ficarão comigo por toda minha vida.

Aos integrantes do GEAr pela amizade e colaboração, e que me ajudaram em todo momento e levarei comigo pelo resto da vida: Sabir Khan, Lucas Silva, Bianca Mortari, Rafael Pupin, Mariana Bartilotti, João Perini e Javier Lobaton. De verdade, muito obrigado pelo convívio e, principalmente, pelo aprendizado pessoal que vocês me transmitiram.

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 a infraestrutura concedida e por ter feito desse lugar minha segunda casa.

A CAPES por todo suporte financeiro.

RESUMO

A tartrazina é um corante amplamente usado na indústria alimentícia que pode ocasionar doenças na pele e doenças neurológicas. O presente trabalho explora diferentes sínteses de polímeros impressos para o corante alimentício Tartrazina, incluídos o método convencional por precipitação e no formato core@shell. Para isso, foram avaliadas sínteses com o monômero funcional, acrilamida, e monômero estrutural, N-N' metileno-*bis*-acrilamida, e os núcleos (core) de sílica (SiO₂) e sílica funcionalizada com agente vinil-silanizante (SiO₂-C=C), os quais foram empregados em diferentes proporções molares para a polimerização. Obtendo-se três materiais, MIP convencional por precipitação, SiO₂-C=C@MIP e SiO₂@MIP estes últimos foram obtidos pelo método core@shell usando diferentes suportes. Se avaliaram as propriedades de adsorção dos materiais. O primeiro material não foi eficiente, nem seletivo. O material híbrido SiO₂-C=C@MIP apresentou uma boa porcentagem de adsorção, 91,5% e manifestou interferência do corante Amarelo Direto 50. Porém, manteve a cor amarela de fundo intensa, devido à alta adsorção do corante pela sílica funcionalizada. O seguinte material híbrido sintetizado foi o SiO₂@MIP, o qual apresentou os melhores resultados e usando a refletância total atenuada diretamente nos sólidos adsorvidos. Para a síntese usou-se a proporção molar 1:2:100 (analito: monômero funcional: monômero estrutural) usando 300 mg de SiO₂. Este material mostrou uma porcentagem de adsorção próxima a 93%. Nos estudos de adsorção do analito, as isotermas de adsorção foram plotadas no intervalo de concentração de 0,1 a 100 µmol L⁻¹, se ajustando a um perfil de Langmuir-Freundlich. Nos estudos de seletividade, o SiO₂@MIP demonstrou um reconhecimento seletivo do analito, ao não adsorver, ou adsorver em menor grau, os corantes estudados, inclusive o Amarelo Direto 50. Após obtidos os materiais otimizados, estes foram caracterizados por MEV e espectroscopia Raman, encontrando partículas esféricas de diâmetro de 203, 213 e 229 nm para o suporte SiO₂, SiO₂@NIP e SiO₂@MIP, respectivamente para o material em core@shell. Finalmente, os materiais sintetizados foram aplicados em amostras de refrigerantes, e os valores encontrados foram comparáveis com os obtidos pelo método de referência por HPLC. Com estas informações, foram realizados estudos preliminares para a síntese diretamente em *tips* de fibras ópticas mostrando a viabilidade de desenhar um sensor óptico usando o material descrito neste trabalho.

Palavras chave: Tartrazina; MIP core@shell; reflectância difusa.

ABSTRACT

Tartrazina is a dye widely used in food industry, which can cause skin neurological diseases. The present work explores different syntheses of imprinted polymers for food dye Tartrazine, including the conventional method by precipitation and the core@shell format. For this, diverse syntheses with functional monomer, acrylamide, and structural monomer, N-N'-methylenebisacrylamide, and cores of silica (SiO_2) and vinyl-functionalized silica ($\text{SiO}_2\text{-C=C}$), which were employed in different molar ratios for polymerization. Obtaining three materials, conventional MIP by precipitation, $\text{SiO}_2\text{-C=C@MIP}$ and $\text{SiO}_2\text{@MIP}$ by core@shell method using different cores. Evaluating adsorption properties of the materials, the first material was not efficient, nor selective. The hybrid material $\text{SiO}_2\text{-C=C@MIP}$ showed a good adsorption percentage, 91.5% and an interfering dye, Direct Yellow 50. However, the material presented an intense yellow coloration given by the high adsorption of dye on the used core. Synthesized $\text{SiO}_2\text{@MIP}$ hybrid material showed better results and attenuated total reflection was directly used on adsorbed solids. For the syntheses was used 1:2:100 molar proportion (analyte: functional monomer: structural monomer) using 300 mg of SiO_2 . This material showed an adsorption percentage near to 93%. In the adsorption studies of the analyte, the adsorption isotherms were plotted in the concentration range of 0.1 to 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, adjusting to a Langmuir-Freundlich profile. In the study of selectivity, $\text{SiO}_2\text{@MIP}$ showed selective recognition of the analyte by not adsorbing or adsorbing on less proportion the studied dyes, including Direct Yellow 50, the main interfering on this work. After obtaining the optimized materials, they were characterized by SEM and Raman spectroscopy, finding spherical particles of diameter 203, 213 and 229 nm for SiO_2 , $\text{SiO}_2\text{@NIP}$ and $\text{SiO}_2\text{@MIP}$, respectively, for the core shell material. Finally, the synthesized materials were applied to soda samples, and the values found were comparable to those obtained by the reference method by HPLC. With this information, preliminary studies were made synthesizing directly on optical tip-fibers showing the feasibility of designing an optical sensor using the material described in this work.

Keywords: Tartrazine; MIP core@shell; diffuse reflectance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do corante Tartrazina (yellow acid 23)	17
Figura 2: Princípio geral da impressão molecular	19
Figura 3: Síntese de MIP pelo método core@shell	20
Figura 4: Sistema de vídeo Barreolino® utilizado para medir refletância em sólidos...21	
Figura 5: Geometria experimental para espectroscopia de reflexão total atenuada (ATR)	22
Figura 6: Sistema de detecção de refletância em um modulo de fibra óptica bifurcada	24
Figura 7: Partes do equipamento ATR	28
Figura 8: Esquema das etapas realizadas na síntese do MIP para tartrazina.....29	
Figura 9: Esquema do procedimento de análise de adsorção/dessorção da tartrazina com o MIP/NIP.....30	
Figura 10: Etapas da síntese de MIP pelo método core@shell	32
Figura 11: Procedimento de análise de adsorção da tartrazina com o SiO ₂ -C=C@MIP (@NIP)	34
Figura 12: Procedimento de análise de adsorção da tartrazina com o SiO ₂ @MIP (@NIP)	35
Figura 13: (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.....36	
Figura 14: Imagens de refletância de sólidos obtidas pelo Barreolino® para os polímeros sintetizados pelo método da co-precipitação e usados na adsorção de 5,0 µmol L ⁻¹ de Tartrazina	38
Figura 15: Espectros de refletância para a adsorção da tartrazina no MIP em diferentes tempos de interação. Medidas realizadas usando 8 mg de cada polímero contendo 1,0 mL de solução de tartrazina 100 µmol L ⁻¹ . Após cada tempo o polímero foi separado por centrifugação e seco a 50 °C em estufa durante 3h.....39	
Figura 16: Espectros de refletância em sólido de diferentes concentrações de tartrazina adsorvida no NIP (a) e no MIP (b). Medidas realizadas usando 8 mg de cada polímero contendo 1,0 mL de solução de tartrazina (nas diferentes concentrações) e	

misturados durante 60 min. Após este tempo o polímero foi separado por centrifugação e seco a 50 °C em estufa durante 3 h.....	40
Figura 17: Perfil das isotermas de adsorção da tartrazina no NIP (a) e no MIP (b), obtidas nas condições previamente otimizadas.....	42
Figura 18: Espectros de absorvância da tartrazina em solução água/amônia (8:2, v/v)	43
Figura 19: Curva analítica para a tartrazina obtida em solução de água/amônia (8:2, v/v)	44
Figura 20: Seletividade do MIP e NIP, registrada pela refletância de sólidos para cada corante avaliado. Tendo a variação da refletância mostrada pelo analito (TAR) como 100% da quantidade retida de analito, e as outras sendo proporcionais segundo cada valor obtido para cada interferente.....	47
Figura 21: Cromatograma do HPLC de uma injeção de 20 µL de Tartrazina 10 µmol L ⁻¹ com fase móvel de metanol: tampão fosfato 0.01 mol L ⁻¹ pH 7 (90:10 v/v) com fluxo de 1 mL.min ⁻¹	48
Figura 22: Curva analítica obtida conforme o procedimento descrito na Figura 21	49
Figura 23: Cromatograma do HPLC de uma injeção de 20 µL da amostra refrigerante do “tipo I” com fase móvel de metanol: tampão fosfato 0.01 mol L ⁻¹ pH 7 (90:10 v/v) com fluxo de 1 mL.min ⁻¹	50
Figura 24: Fotografias dos materiais híbridos core@shell sintetizado usando como núcleo as nanopartículas de SiO ₂ -C=C.....	51
Figura 25: Perfil da porcentagem de tartrazina adsorvida em função da massa de polímero usada nos experimentos de extração em D-SPE. Medidas realizadas em soluções aquosas contendo 10 µmol L ⁻¹ de tartrazina.....	52
Figura 26: Perfil da porcentagem de tartrazina adsorvida em função do pH da solução de extração. Medidas realizadas usando 6 mg de polímero e soluções de tartrazina contendo 10 µmol L ⁻¹	53
Figura 27: Perfil da % de retenção do corante em função do tempo de interação (A-E = 2, 4, 8, 12, 15 minutos)	54
Figura 28: Isotermas de adsorção para tartrazina pelos materiais core@shell com núcleo de SiO ₂	55
Figura 29: Perfil da seletividade dos materiais core@shell com núcleo de SiO ₂ -C=C. Concentração das soluções dos corantes de 2 µmol L ⁻¹	56

Figura 30: Espectro de refletância dos materiais sintetizados pelo método core@shell	59
Figura 31: SiO ₂ @MIPs e SiO ₂ @NIPs sintetizados variando a relação molar do analito com o monômero funcional.....	60
Figura 32: Espectro de refletância dos MIPs e NIPs com suporte de SiO ₂ sintetizados pelo método core@shell	61
Figura 33: MIPs e NIPs sintetizados variando a relação molar do monômero estrutural.....	63
Figura 34: Espectro de refletância dos MIPs com suporte de SiO ₂ sintetizados pelo método core@shell	63
Figura 35: Perfil de refletância relativa dos materiais SiO ₂ @MIP e SiO ₂ @NIP otimizados	65
Figura 36: Perfil de isotermas de adsorção da tartrazina no (a) SiO ₂ @NIP e (b) SiO ₂ @MIP	66
Figura 37: Seletividade do SiO ₂ @NIP e SiO ₂ @MIP, registrada pela refletância de sólidos para cada corante avaliado. Tendo a variação da refletância mostrada pelo analito (TAR) como 100% da quantidade retida de analito, e as outras sendo proporcionais segundo cada valor obtido para cada interferente	67
Figura 38: Imagens obtidas com SEM das partículas de SiO ₂ em diferentes escalas (a) x1000, (b) x25000 e (c) 50000	68
Figura 39: Imagens obtidas com SEM das partículas de SiO ₂ @NIP em diferentes escalas (a) x1000, (b) x25000 e (c) 50000	69
Figura 40: Imagens obtidas com SEM das partículas de SiO ₂ @MIP em diferentes escalas (a) x1000, (b) x25000 e (c) 50000	70
Figura 41: Espectros Raman do suporte SiO ₂ , SiO ₂ @NIP e SiO ₂ @MIP	72
Figura 42: Curva analítica de Concentração de Tartrazina vs Refletância	73
Figura 43: MIP de tartrazina (esquerda) e NIP (direita) sintetizada diretamente em fibra de vidro, após lavagem	74
Figura 44: Refletância normalizada obtida para os sensores preparados com MIP e NIP sobre fibra, em função de diferentes concentrações de tartrazina	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Métodos de detecção para o corante Tartrazina em diferentes matrizes alimentícias com base em seus limites de detecção.....	18
Tabela 2: Relação dos interferentes estudados neste trabalho	31
Tabela 3: Porcentagem de recuperação da tartrazina após desorção do MIP com solução de água/amônia 8:2 (v/v)	44
Tabela 4: Estruturas químicas dos corantes usados para o estudo da seletividade neste trabalho.....	46
Tabela 5: Teores de Tartrazina encontrados usando os diferentes métodos propostos	50
Tabela 6: Teores de Tartrazina encontrados usando o polímero híbrido do tipo core@shell	56
Tabela 7: Diferencia de refletância dos materiais tipo core@shell com 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de tartrazina.....	59
Tabela 8: Porcentagem de adsorção e refletância do 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de tartrazina em 2 mL de solução dos polímeros	62
Tabela 9: Refletância de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de tartrazina em 2 mL de solução dos polímeros.....	64
Tabela 10: Teores de Tartrazina encontrados usando os métodos apresentados neste trabalho	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs: Absorbância

ATR: Reflectância total atenuada

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

KPS: persulfato de potássio

ME: Monômero estrutural

MF: Monômero funcional

MIP: Polímero molecularmente impresso

NIP: Polímero não-impresso

T: Template ou molécula molde

R: Refletância

RSD: Desvio Padrão

TAR: Tartrazina

UV-Vis: Ultravioleta e Visível

θ : Ângulo de incidência

η : índice de refração

λ : Comprimento de onda

°C: Grau Celsius

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
1.1	Tartrazina	18
1.2	Polímeros Molecularmente Impressos	19
1.3	Refletância Total Atenuada (ATR – Attenuated Total Reflection)	21
1.4	Sensores e Optodos	24
2.	OBJETIVOS	27
2.1	OBJETIVO GERAL	27
2.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS	27
.		
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	Reagentes e Soluções	28
3.2	Instrumentação	28
3.3	Síntese de MIP e NIP “convencionais” pelo método da co-precipitação	29
3.3.1	Procedimento para a síntese dos polímeros	29
3.3.2	Experimentos de religação e seletividade usando a extração em fase sólida dispersiva (D-SPE: dispersive solid phase extraction)	30
3.4	Síntese de MIP e NIP pelo método core@shell	32
3.4.1.	Síntese de MIP (e NIP) sobre nanopartículas de SiO ₂	32
3.4.2.	Experimentos de religação e seletividade usando a D-SPE	33
3.5.	Aplicação dos materiais em amostras reais	36
14.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
4.1	Espectro de absorção e curva analítica	37
4.2	Estudos relacionados aos materiais obtidos pelo método co-precipitação	38
4.2.1.	Perfil da refletância atenuada dos sólidos	38
4.2.2.	Estudos para avaliar o tempo de adsorção	39
4.2.3.	Estudos de adsorção	41
4.2.4.	Estudos para avaliar a eficiência da dessorção	44
4.2.5.	Estudos preliminares de seletividade	46
4.2.6.	Aplicação dos polímeros sintetizados em amostras de alimentos contendo tartrazina	48

4.3	Estudos relacionados aos materiais obtidos pelo método core@shell	51
4.3.1.	Polímeros híbridos à base de sílica funcionalizada com γ -MPS	51
4.3.1.1.	Estudos de otimização e avaliação do material	52
4.3.1.2.	Avaliação da seletividade	55
4.3.1.3.	Avaliação na quantificação de Tatrazina em amostras de alimentos.....	56
4.3.2.	Polímeros híbridos à base de sílica sem funcionalizar	57
4.3.2.1.	Estudos de otimização e avaliação do material	57
4.3.2.2.	Avaliação do perfil de adsorção do material	64
4.3.2.3.	Avaliação da seletividade	67
4.3.2.4.	Caracterização dos materiais	68
4.3.2.5.	Aplicação do SiO ₂ @MIP na análise de amostras de refrigerante	72
4.4	Estudos relacionados à síntese do MIP sobre fibras ópticas visando construção de optodos (sensores químicos a base de fibras ópticas)	74
5.	CONCLUSÕES.....	77
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	78
	REFERÊNCIAS	79

1. INTRODUÇÃO

Os aditivos alimentares são comumente usados na produção de alimentos para melhorar a aparência, sabor, cor, textura, e preservação. Uma parte desses aditivos são os corantes sintéticos, que têm sido usados na indústria alimentícia durante as últimas quatro décadas, devido à sua elevada intensidade de cor, maior estabilidade, menor custo, e ampla faixa de aplicação [1,2].

Os corantes sintéticos também são amplamente empregados para tingimento de tecidos, papéis, celulose, plásticos, fotografias coloridas, cosméticos e outros produtos industrializados. Existem mais de 100.000 tipos de corantes comerciais que são descartados no meio ambiente, representados por uma quantidade de 2.8×10^5 toneladas/ano em água residuais em todo o mundo [3].

Um grave problema originado pelas indústrias que utilizam corantes, dentre elas, as têxteis é o descarte dos efluentes, pois são perdidos no processo de tingimento aproximadamente 50% dos corantes e cerca de 10 a 15% deles são descartados nos efluentes [4], provocando uma degradação ambiental considerável, modificando a coloração natural dos rios e lagos [5].

Em geral, os corantes sintéticos são formados usualmente por grupamentos funcionais azo (N = N) e anéis aromáticos; assim, eles são prejudiciais à saúde, devido a seus produtos de degradação [6]. Desta forma, a *Food and Agricultural Organization* e a Organização Mundial da Saúde que tem analisado os prejuízos que podem trazer à saúde cada corante alimentício [7]. Tartrazina é um desses corantes azo amplamente usados em produtos alimentícios industrializados, e que podem causar alergia, enxaqueca, ansiedade, diarreia e até deficiências neurológicas, se consumidos em excesso [8,9]. Como consequência disto, tem aumentado as restrições legais, e assim a determinação e monitoramento de corantes alimentícios tem-se tornado uma prioridade atual para a saúde pública e do meio ambiente.

1.1 Tartrazina

Os corantes alimentícios são um tipo de aditivo que conferem cor aos alimentos e são amplamente usados na indústria alimentícia, existem corantes naturais e corantes artificiais [4,7].

A tartrazina ou também chamada (4E)-5-oxo-1-(4-sulfonatofenila)-4-[(4-sulfonatofenila)hidrazono]-3-pirazolcarboxilato trissódico (segundo a nomenclatura da IUPAC), é um corante artificial que tem a fórmula molecular $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ e fórmula estrutural da Figura 1 [10]; é conhecida por sua coloração amarela intensa e pode ser utilizada em combinação com outros corantes como o (azul brilhante FCF) e (verde S) para produzir várias tonalidades de verde.

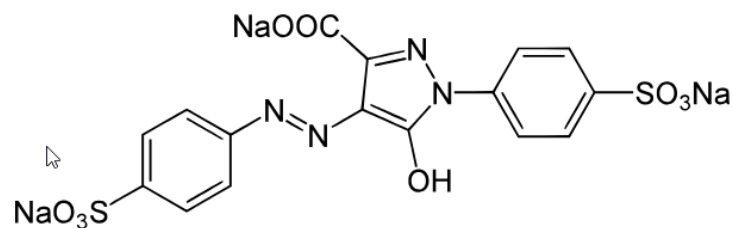


Figura 1: Estrutura química do corante Tartrazina (*yellow acid 23*).

Fonte: O próprio autor

Este corante pode causar urticaria e hipersensibilidade se a concentração for maior que $7,5 \text{ mg Kg}^{-1}$ de massa corpórea. Têm sido reportado que a tartrazina pode ocasionar a liberação excessiva de histamina, em especial em indivíduos asmáticos [11], podendo desencadear algumas doenças tais como hepatites e síndrome de déficit de atenção e hiperatividade [12].

Até agora, diversos métodos, tais como espectrofotometria UV-VIS [13,14], espectroscopia fotoacustica [15], cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) [16] e electroforese capilar [17], têm sido reportados para a determinação de tartrazina. Também Ghasem *et al* [18] propõem um sensor seletivo para a determinação de tartrazina usando voltametria de pulso diferencial, obtendo um LOD de 80 nmol L^{-1} , uma faixa de trabalho de $0,35 - 5,44 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e aplicado em amostras de refrigerante. A

Tabela 1 mostra diferentes métodos para determinar a concentração do analito em amostras alimentícias, apresentando limites de detecção relativamente baixos.

Tabela 1: Métodos de detecção para o corante Tartrazina em diferentes matrizes alimentícias com base em seus limites de detecção

Método de detecção	Amostra	Faixa Linear - LOD	Referências
Espectrofotometria	Gelatina aromatizada com papaia, doces, e xarope de frutas	0,7 – 360 ng mL ⁻¹ 0,3 ng mL ⁻¹	(13)
	Gelatina sabores laranja e maracujá	1 – 20 mg L ⁻¹ 0,19 mg L ⁻¹	(14)
Espectroscopia fotoacústica	Gelatina em pó, limão, pêssego, suco em pó, e frutas cítricas	1,0 – 10,0 mg L ⁻¹ 0,086 mg L ⁻¹	(15)
HPLC	Refrigerantes e balas	0,01 – 20 µg mL ⁻¹ 0,04 µg mL ⁻¹	(16)
Amperométrica – Detecção Eletroforética	Refrigerantes e balas	2,5 nmol L ⁻¹ – 1,0 µmol L ⁻¹ 1,25 nmol L ⁻¹	(17)
Voltametria	Refrigerantes	0,0349 – 1,246 µmol L ⁻¹ 80 nmol L ⁻¹	(18)

Fonte: O próprio autor

Com esses antecedentes, neste trabalho se propõe a avaliação de de um polímero molecularmente impresso (MIP) para posterior uso como fase de reconhecimento na construção de um sensor óptico dada a alta seletividade que oferece [19,20] para determinar tartrazina em amostras de alimentos.

1.2. Polímeros Molecularmente Impressos

Os polímeros molecularmente impressos (MIP's - *molecularly imprinted polymers*) são polímeros construídos usando a tecnologia da impressão molecular, sendo que esse procedimento cria uma cavidade complementar a estrutura da molécula molde no polímero, o qual apresentará uma alta seletividade à molécula *template* utilizada.

O processo começa com a seleção da molécula *template*, onde a molécula interage com monómeros funcionais formando um complexo com interações covalentes ou não-covalentes, em seguida há a interação com os monómeros

estruturais (também chamados de *cross-linker*) ocorrendo a polimerização depois de acrescentar o reagente iniciador de polimerização. Na etapa final, ocorre a remoção da molécula *template* com um solvente polar ou não polar dependendo das características do analito (Figura 2). Após a lavagem/extração, a cavidade possui o tamanho, a forma e a posição de grupos funcionais adequados para interagir com a molécula *template* seletivamente. Este sistema é análogo ao que ocorre com os receptores biológicos, cuja principal característica é a capacidade de reconhecer e ligar moléculas especificamente, e por esta razão os MIP também são conhecidos como anticorpos plásticos ou polímeros biomiméticos [21].

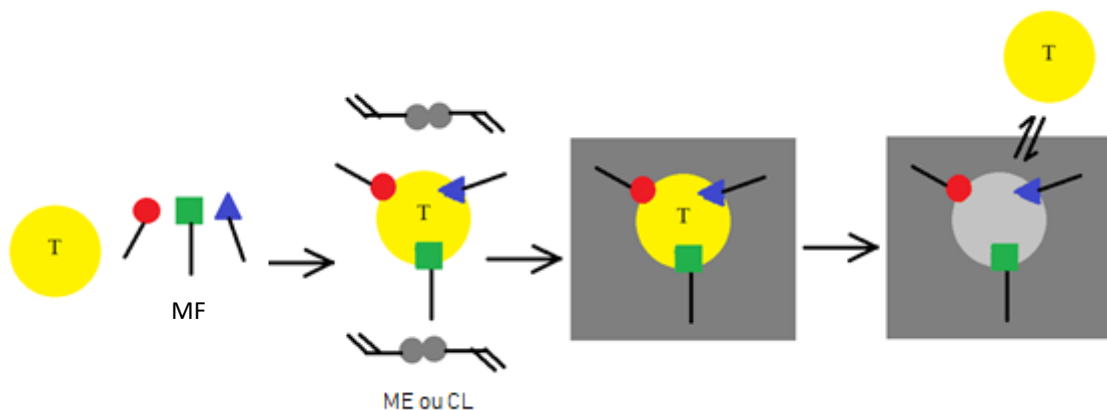


Figura 2: Princípio geral da impressão molecular. A molécula molde (*template*: T) é misturada com os monómeros funcionais (MF), para em seguida iniciar a polimerização usando monómeros estruturais (ME) ou *cross-linkers* (CL) e iniciador radical. Posteriormente, o T é extraído para obter o MIP propriamente dito.

Fonte: O próprio autor

Para a impressão molecular, a escolha dos monômeros funcionais é influenciada pela sua afinidade pela molécula molde (*template*), e não é uma tarefa trivial. Em geral, a impressão molecular não covalente é a mais comum, e neste caso, a razão molar entre o *template* e o monômero funcional é geralmente de 1 para 4, e as interações que podem ocorrer são de natureza ácido-base, interações de hidrogênio ou de van der Waals, entre outras [22].

Na formação do MIP o monômero estrutural desempenha as seguintes funções: (i) controle da morfologia do polímero da matriz; (ii) estabilidade da impressão molecular dos monômeros funcionais, e; (iii) estabilidade mecânica da matriz polimérica [22].

Os polímeros não-impressos (NIP: *non-imprinted polymers*) são polímeros de controle que são usados para avaliar o desempenho dos MIP. A sua síntese é praticamente igual à do MIP, com a única diferença de que a molécula *template* não é adicionada na mistura reacional. Este polímero (NIP) é imprescindível em estudos exploratórios da eficiência do MIP, a fim de determinar se a interação que ocorre entre o polímero e a molécula *template*, é devido à capacidade seletiva do MIP ou, devido a interações não específicas entre os monómeros estruturais e/ou funcionais com o *template*.

Visando melhorar a transferência de massa do analito no polímero impresso, e assim diminuir o tempo de adsorção nos MIP, recentemente tem sido proposta a síntese de MIP híbridos obtidos no formato core@shell (Figura 3), onde se sintetiza o polímero na superfície (*shell*) de um suporte ou *core*. Além disso, esses suporte podem acrescentar propriedades ao material sintetizados, por exemplo, um suporte de magnetita otorgará ao material propriedades magnéticas. Um dos materiais que permitem obter partículas uniformes e esféricas, ao serem usados como núcleos (*core*), são as nanopartículas de silício, sobre as quais, após a devida funcionalização do silício, é do realizada a polimerização correspondente MIP (*shell*) deixando as cavidades seletivas mais expostas, por estarem na superfície do material híbrido, facilitando a transferência de massa, pois, a diferença dos MIP convencionais, haverá menor quantidade de poros seletivos confinados dentro da matriz polimérica [23].

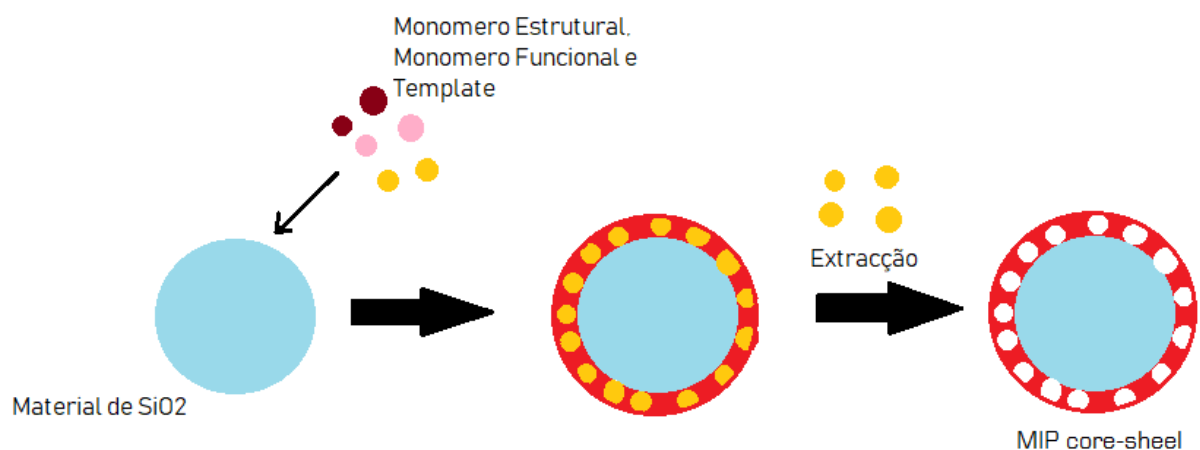


Figura 3: Síntese de MIP pelo método core-shell.

Fonte: O próprio autor

Sendo possível a polimerização sobre partículas de sílica, este conceito pode ser estendido para a síntese de MIP na superfície de fibras ópticas de vidro, de maneira a se obter sensores para a construção de optodos descartáveis, sobre as quais pode ser sintetizados filmes finos de polímero impresso visando a construção de novos sensores ópticos de fácil preparação, seletivos e duradouros. Trazendo a tecnologia de impressão molecular para o desenvolvimento de optodos biomiméticos.

1.3. Refletância Total Atenuada (ATR – Attenuated Total Reflection)

Barrelino® é o nome comercial de um sistema de ATR (Refletância Total Atenuada) usado para medidas da refletância difusa em sólidos acoplado no espectrofotômetro da Cary 60-UV/vis da Agilent Technologies® (Figura 4).



Figura 4: Sistema de vídeo Barrelino® utilizado para medir refletância em sólidos.

Fonte. O próprio autor

A espectroscopia de refletância total atenuada ou de reflexão interna, é uma técnica de contato muito usada para análise de superfícies de materiais dielétricos, semicondutores e condutores e, é usada em vários campos da ciência, tais como estudo de polímeros [24], ciência de interfaces biológicas [25], e catálise heterogênea [26]. O princípio deste tipo de espectroscopia baseia-se em que um feixe de radiação passa de um meio mais denso η_1 (cristal de ATR) para um meio menos denso η_2

(amostra), quando a radiação bate a interface num ângulo de incidência (θ) maior que o ângulo crítico (θ_c), dado por $\sin(\theta_c) = \eta_2/\eta_1$, a reflexão total acontece (Figura 5).

O cálculo da propagação de uma onda plana de um meio η_1 com maior índice de refração em um outro meio η_2 com menor índice de refração ($\eta_2 < \eta_1$) baixou condições onde a reflexão total acontece é:

$$E = E_0 e^{-z/d_p} \quad (\text{eq. 1})$$

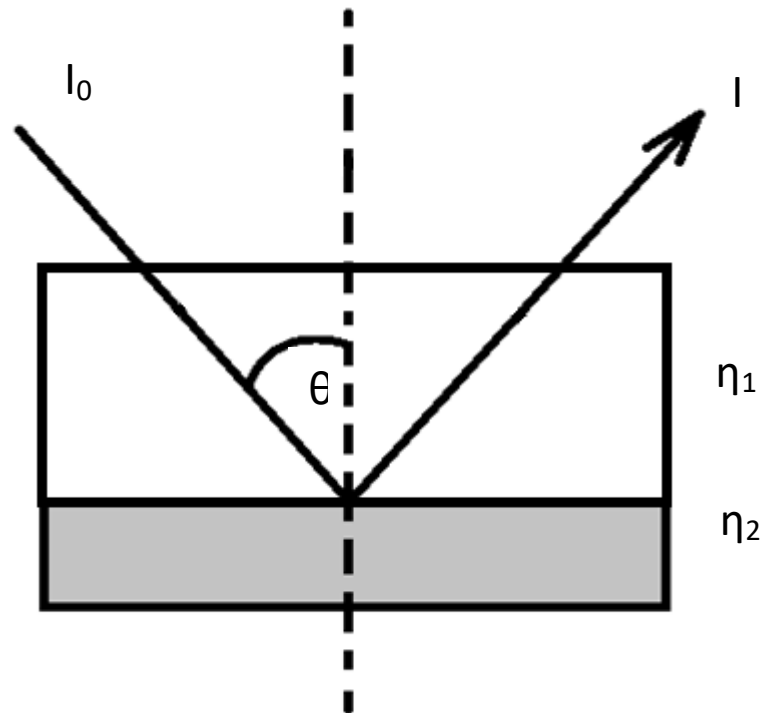


Figura 5: Geometria experimental para espectroscopia de reflexão total atenuada (ATR). I_0 e I são intensidade da radiação incidida e refletida, respectivamente, θ , ângulo de incidência e, η_1 e η_2 , índices de refração do cristal do ATR e da amostra respectivamente.

Fonte: O próprio autor

Onde E_0 é a amplitude do campo elétrico na interface, o qual depende do ângulo de incidência, os índices de refração e a polarização do campo. O campo elétrico da onda evanescente diminui exponencialmente com a distância z desde a interface. Segundo a equação 1, d_p , a distância de penetração da onda evanescente,

é definida como a distância da interface ao qual a amplitude do campo elétrico E caiu $1/e$ do valor na interface E_0 , dada por:

$$d_p = \frac{\lambda_1}{2\pi \sqrt{\sin^2 \theta - \eta_{21}^2}} \quad (\text{eq. 2})$$

Onde $\lambda_1 = \lambda/\eta_1$ é o comprimento de onda no meio de maior densidade ótica e $\eta_{21} = \eta_2/\eta_1$. A distância de penetração depende do comprimento de onda da luz e assim muda no todo o espectro.

Também é introduzido o conceito de espessura efetiva d_e que é regida pela Lei de Beer-Lambert da seguinte forma: $A = \mathcal{E}_m \cdot c \cdot d_e$, e que numa experiência de ATR, A é absorvância; \mathcal{E}_m coeficiente de absorção molar; e c concentração do analito na amostra:

$$d_e = \frac{n_{21} E_0^2 d_p}{2 \cos \theta} \quad (\text{eq. 3})$$

Os cristais maiormente usados nos módulos de ATR são o Germânio (Ge) e o diamante. [27]

Este equipamento será usado no presente trabalho pois oferece um estudo das propriedades intrínsecas do material sólido, o qual facilitará o estudo deste ao não ser necessário extrair o analito do polímero e, além disso, aproveitar as propriedades óticas do corante para sua determinação.

1.4. Sensores e Optodos

Um sensor é aquele dispositivo que tem a propriedade de detectar uma magnitude em um sistema e ao variar essa magnitude, o dispositivo também consegue detectar a variação, em outras palavras, o sensor detecta a presença dessa magnitude, assim como também a medição de alguma alteração da magnitude no sistema. Existem diversos tipos de sensores, dentre deles está o sensor químico. [28]

Um sensor químico é um dispositivo que gera um sinal óptico, elétrico ou térmico, como resposta da interação com o composto de interesse. Um sistema básico de um sensor químico tem três elementos: a fase de reconhecimento, onde acontece

a interação seletiva com o analito; o transdutor, que converte essa interação em sinal elétrico mensurável; e o instrumento, que analisa o sinal.

Os sensores químicos podem ser classificados por sua natureza física do sinal, em sensores eletromagnéticos, elétricos ou térmicos. Dentre os sensores químicos eletromagnéticos, tem-se o sensor químico de fibra óptica ou também chamado optodo.

Estes sensores são comumente usados em espectrofotometria, aproveitando as propriedades ópticas que oferecem. As vantagens que os optodos oferecem são as seguintes: o análise remoto e em tempo real, não é necessário ter um dispositivo de referência, ao não ser os optodos dispositivos elétricos, estão livres dessas interferências, a construção dos sensores é relativamente econômica.

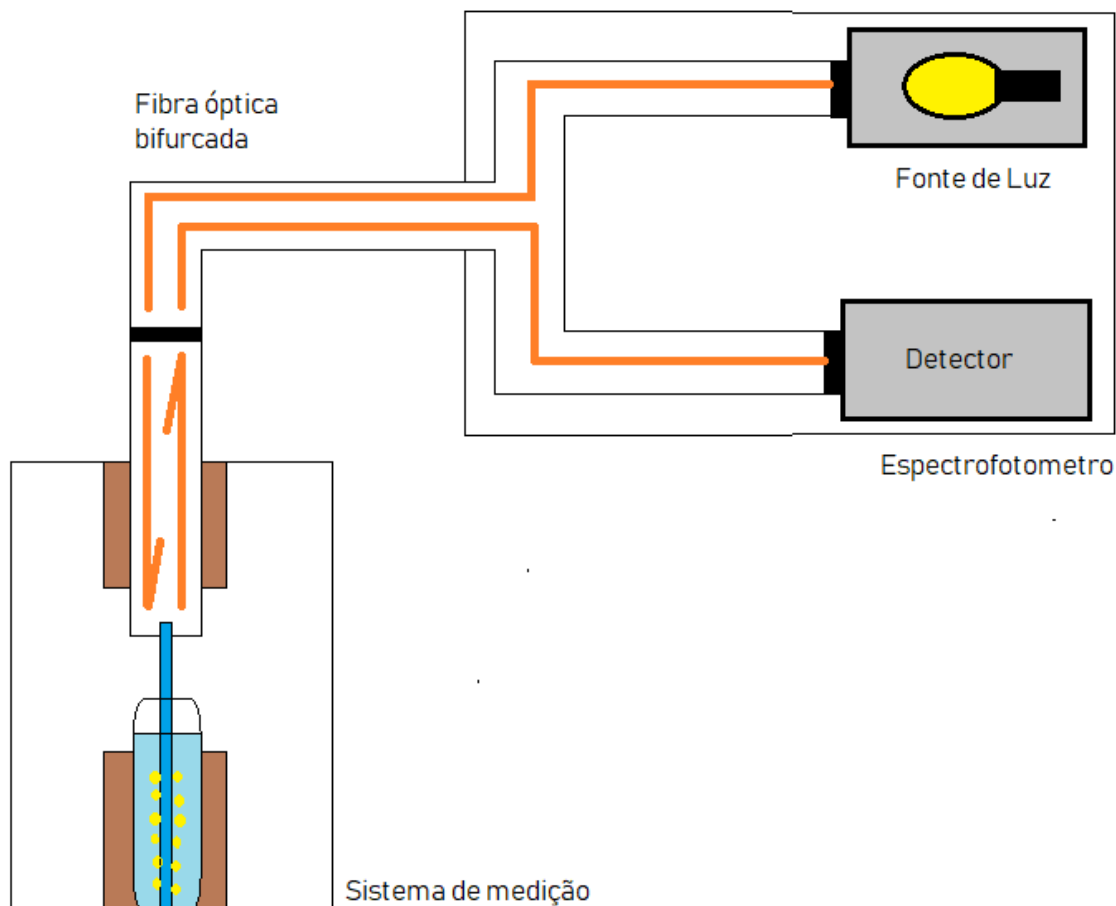


Figura 6: Sistema de detecção de refletância em um módulo de fibra óptica bifurcada.

Fonte: O próprio autor

Geralmente, estes sensores são em sistemas de medição bifurcados (Figura 6). O princípio de medição é simples. A luz da fonte é introduzida numa das fibras do sistema bifurcado, esta luz será guiada até a fase sensora para interagir. Nesta

interação acontece uma modificação da sinal (luz da fonte), esta modificação está relacionada com a propriedade óptica intrínseca do composto de interesse; o sinal voltará pela outra fibra e chegará ao detector da luz, onde será analisado para ser medido. [29]

Neste trabalho, a fase de reconhecimento do sensor óptico será o polímero de impressão molecular que será sintetizado na superfície da fibra óptica, para logo ser usados na determinação do analito estudado.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar um polímero molecularmente impresso seletivo a tartrazina com vistas a desenvolver um sensor óptico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sínteses dos polímeros nos formatos, convencional e core @shell com núcleo (core) de sílica modificada, e não modificada com MPS.
- Comparar a capacidade de adsorção dos polímeros sintetizados. de adsorver o analito.
- Otimização dos parâmetros da síntese do polímero para a Tartrazina.
- Aplicação do MIP em amostras reais.
- Testes preliminares para a construção de um *tip*-sensor de fibra óptica-MIP.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados neste trabalho foram: Tartrazina como molécula molde e analito; *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®).

Para a preparação das soluções de Tartrazina a diferentes pH, se utilizou ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) fornecidos pela Fluka®. E os corantes amarelo 2R, amarelo direto 50, laranja G, Laranja disperso 1, ácido vermelho 1, ácido vermelho 29, violeta direto 51, ácido azul 80 e ácido verde 16, usados na avaliação da seletividade do MIP foram 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 de 200 a 800 nm. As medidas de refletância difusa em sólidos foram executadas no módulo específico ATR denominado de Barrelinho® (Figura 7).

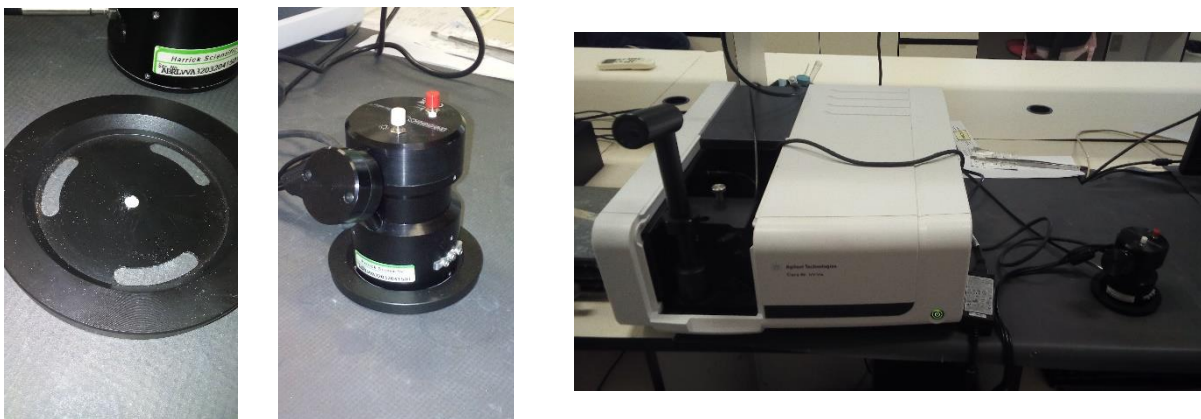


Figura 7: Partes do equipamento ATR: suporte para a colocação da amostra sólida (esquerda), módulo ATR ou Barrelino® (centro) e módulo acoplado no espectrofotômetro UV/Vis (direita).

Fonte: O próprio autor

O potenciômetro utilizado foi da ION® modelo pH500 e a bomba de vácuo utilizada foi da EIKONAL® (Modelo 131/132). Também foi utilizado o cromatografo líquido da Shimadzu® Prominence LC-20AT, munido de uma unidade de degasseificação DGU-20A 5R, e detector UV/VIS modelo SPD-20A com autoamostrador SIL-20A, usado como método de comparação.

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

3.3. Síntese do MIP e NIP convencionais pelo método da precipitação

3.3.1. Procedimento para a síntese dos polímeros

Para a síntese do MIP (e seu correspondente NIP) foi seguido o procedimento de *Arabzadeh et al* [30]. Para tal, 1,0 mmol do *template* (tartrazina) e 2,0 mmol do monômero funcional acrilamida foram misturados em 40 mL de água destilada, que é o solvente empregado na síntese. A solução foi deixada em repouso por 2 h para que a interação entre o monômero funcional e o *template* seja homogênea. A seguir, 10,0 mmol do monômero estrutural *N-N'*-metileno-*bis*-acrilamida foi adicionado na solução e desareado sob fluxo de N₂ durante 10 minutos para remoção do oxigênio da solução. Logo, 0,185 mmol do iniciador de polimerização, persulfato de potássio (KPS) foi acrescentado e a solução desareada novamente por mais 10 minutos. Finalmente, os frascos das soluções foram selados sob essa atmosfera anaeróbia e colocados em

um banho-Maria a 60 °C durante 22 horas. Uma vez obtido, o polímero foi lavado em sistema de extração Soxhlet usando 100 mL de uma solução de água/amônia 8:2 (v/v). Para assegurar a remoção total do analito, se fizeram várias lavagens trocando a solução de água/amônia a cada 6 horas. Na etapa final, se fez uma última lavagem em vácuo com água deionizada e, se deixou no dessecador por 24 horas, para completa secagem.

O polímero de controle (NIP: *non-imprinted polymer*) foi sintetizado exatamente como o MIP, porém na ausência da molécula molde.

A Figura 8, mostra em forma de esquema as etapas realizadas para a síntese deste material.

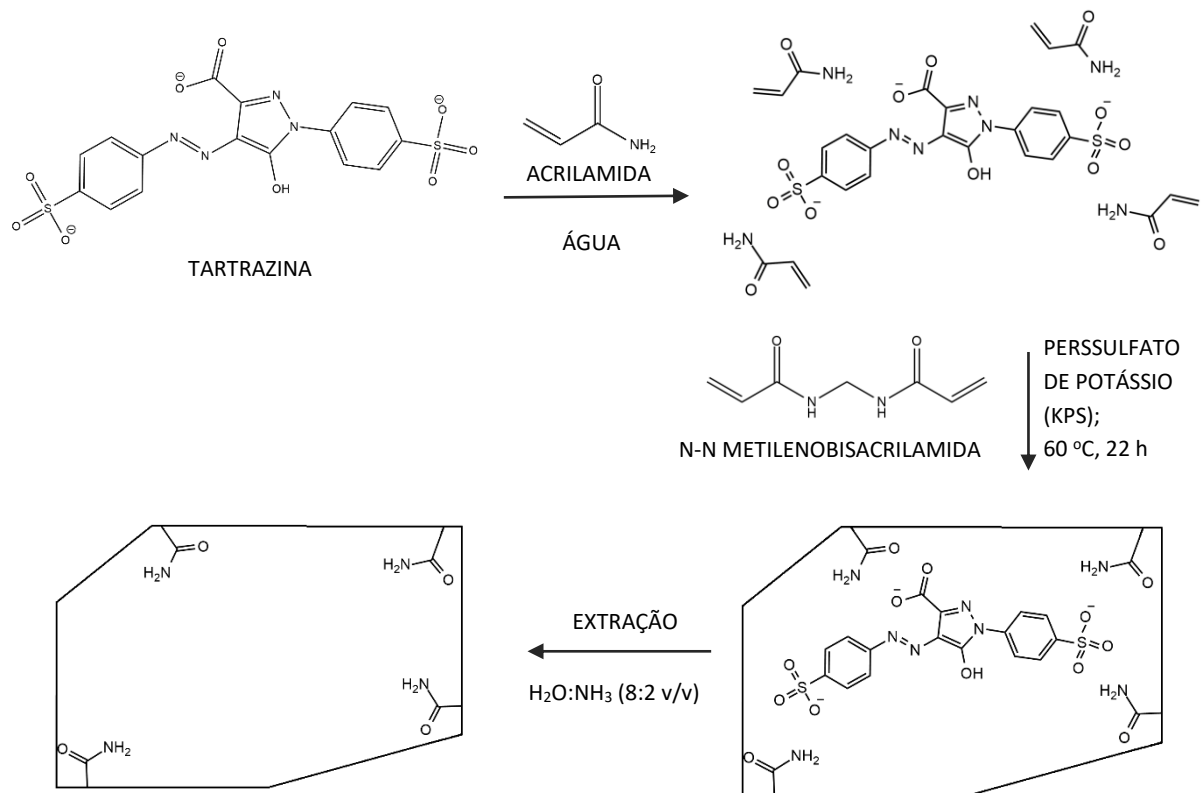


Figura 8: Esquema das etapas realizadas na síntese do MIP para tartrazina.

Fonte: O próprio autor

3.3.2. Experimentos de religação e seletividade usando a extração em fase sólida dispersiva (D-SPE: *dispersive solid phase extraction*)

Para avaliação da qualidade do material sintetizado foram usados inicialmente os parâmetros otimizados no grupo de pesquisa [31]. Para tal, 8 mg de MIP (ou NIP)

foram colocados em um Eppendorf® e a seguir, foi adicionado 1,0 mL de solução de tartrazina, em concentração pré-determinada. A mistura foi deixada homogeneizar por uma hora, e após a decantação do sólido e separação do líquido remanescente, realizou-se a medida da refletância diretamente no sólido seco usando o dispositivo Barreliño® anteriormente mencionado. Posteriormente, o analito foi dessorvido do material com uma solução de água/amônia 8:2 (v/v) com agitação constante por 24 horas, a solução obtida se analisou no espectrofotômetro UV/Vis (Figura 9).

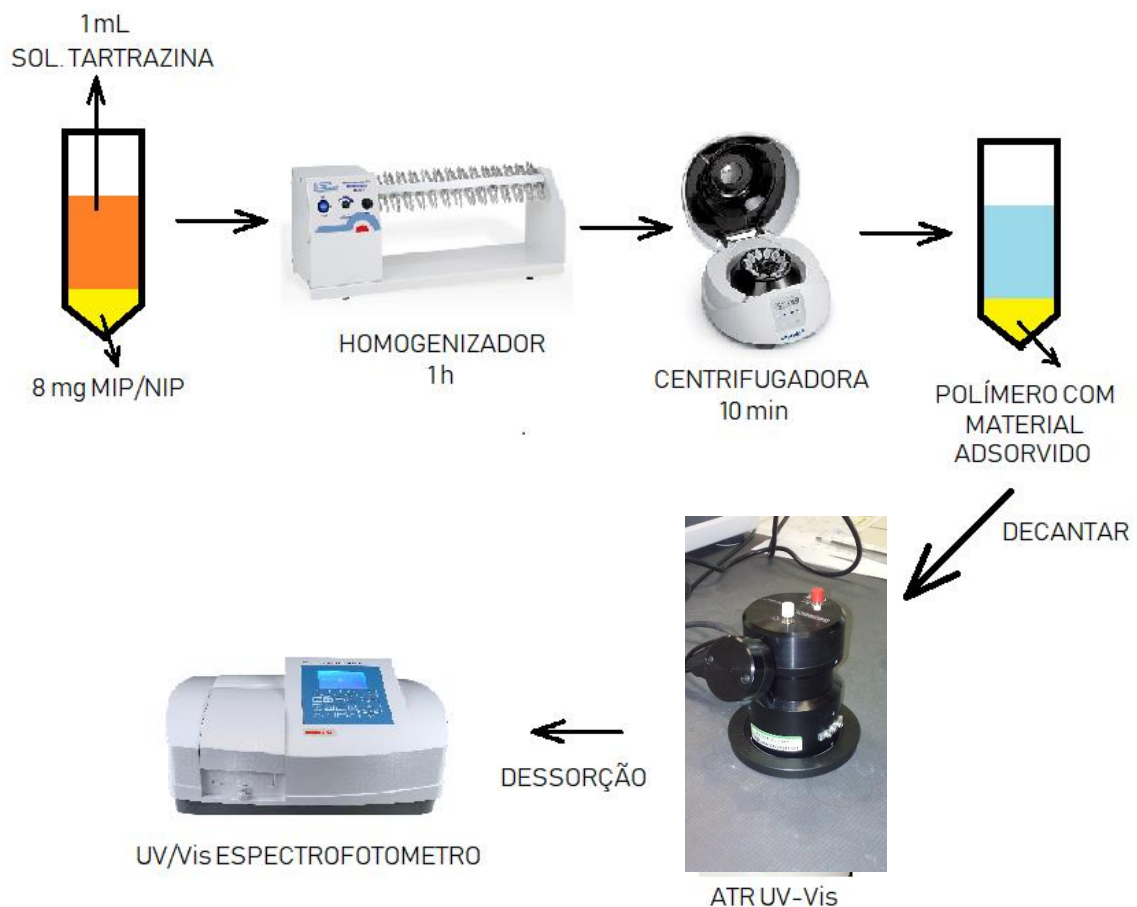


Figura 9: Esquema do procedimento de análise de adsorção/dessorção da tartrazina com o MIP/NIP.

Fonte: O próprio autor

Este experimento permitiu explorar a adsorção do polímero em diferentes concentrações de tartrazina; avaliar o tempo no qual ocorre a adsorção máxima do corante; e realizar os experimentos relacionados com a seletividade do polímero em relação a possíveis substâncias interferentes com estrutura similar, ou que absorvem radiação eletromagnética em comprimentos de onda, próximos à tartrazina (Tabela 2).

Tabela 2: Relação dos interferentes estudados neste trabalho

Acrônimo	Composto
A2R	Amarelo 2R
AD50	Amarelo Direto 50
LG	Laranja G
L1D	Laranja 1 Disperso
AV1	Ácido Vermelho 1
AV29	Ácido Vermelho 29
VD51	Violeta Direto 51
AA80	Ácido Azul 80
AV16	Ácido Verde

Fonte: O próprio autor

3.4. Síntese de MIP e NIP pelo método *core@shell*

3.4.1. Síntese de MIP (e NIP) sobre nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-C=C}$ e SiO_2

Baseados em experimentos do grupo de pesquisa, primeiramente, foram sintetizadas as nanopartículas de sílica silanizadas com metacril-silano ($\text{SiO}_2\text{-C=C}$) seguindo o método proposto por *Prasad et al* [23]. Para isto, 1,2 mL de tetraetil ortosilicato (TEOS) e 1,8 mL de água destilada foram misturados com 18 mL etanol anidro por 5 min. A seguir, foram adicionados 800 μL de amônia concentrada e a solução foi misturada por 1 h à temperatura ambiente. Após esse tempo, mais 1,0 mL de TEOS e 600 μL de γ -metacriloxipropiltrimetoxi silano (γ -MPS) foram adicionados à mistura anterior, e a solução foi submetida a agitação por mais uma hora. A suspensão obtida foi centrifugada, obtendo partículas de aparência branca que são correspondentes ao SiO_2 modificadas com grupos funcionais vinílicos ($\text{SiO}_2\text{-C=C}$), a quais seriam usadas na posterior síntese dos híbridos. As partículas de $\text{SiO}_2\text{-C=C}$

foram lavadas repetidas vezes com etanol para a remoção dos reagentes remanescente e solventes [23].

A síntese do MIP sobre as partículas de $\text{SiO}_2\text{-C=C}$ por *core@shell* foi realizada pelo método de precipitação descrito no item 3.3.1. [30], com algumas modificações. Neste caso, 0,5 mmol de tartrazina e 1 mmol do monômero funcional, acrilamida, foram misturados com 0,300 g de nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-C=C}$ e 40 mL de água destilada. Os demais procedimentos foram os mesmos, tanto para a polimerização, quanto para a lavagem, obtendo-se o material, indicado como $\text{SiO}_2\text{-C=C@MIP}$. Para a síntese do $\text{SiO}_2\text{-C=C@NIP}$, não foi adicionada a molécula *template* (Figura 10).

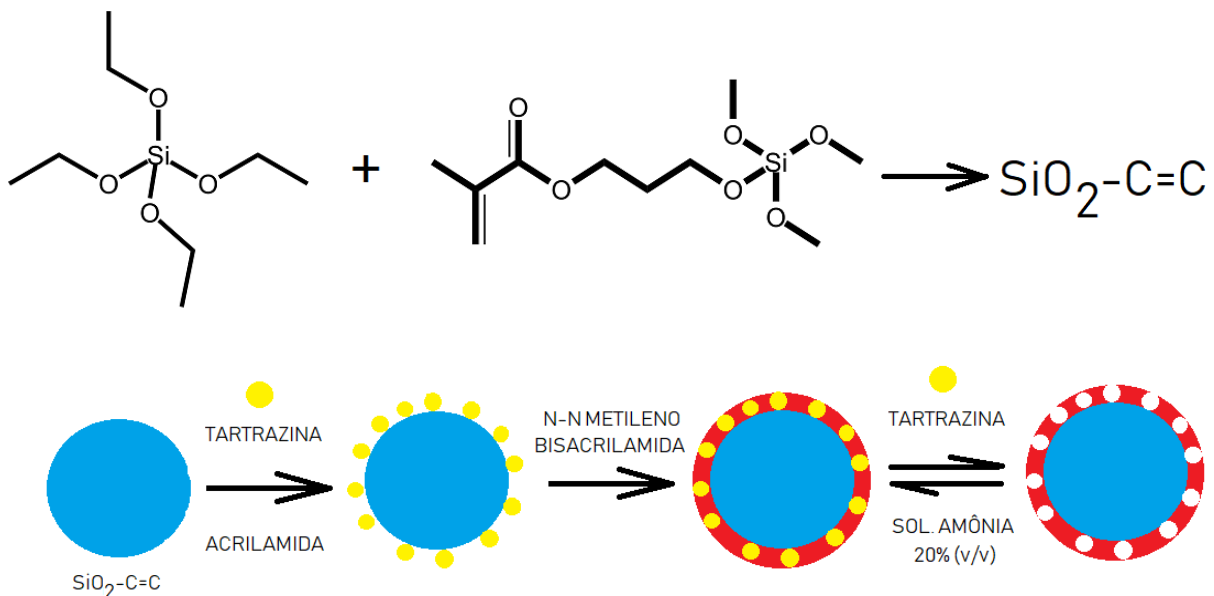


Figura 10: Etapas da síntese de MIP pelo método *core@shell*.

Fonte: O próprio autor

Também foram sintetizados os materiais indicados como, $\text{SiO}_2\text{@MIP}$ e o $\text{SiO}_2\text{@NIP}$, com o suporte SiO_2 sem funcionalizar (sem adição de $\gamma\text{-MPS}$), e que foi obtido da mesma maneira que os materiais descritos à base de sílica funcionalizada.

3.4.2. Experimentos de religação e seletividade usando a D-SPE

Inicialmente, com a finalidade de encontrar os parâmetros ótimos para as adsorções da Tartrazina, foi usado o material híbrido obtido com a sílica funcionalizada, que foi sintetizado inicialmente. Para tal, devido à intensa cor de fundo

desse material, coloração correspondente à Tartrazina que não pode ser retirada completamente deste material após lavagem, a avaliação do desempenho deste material híbrido foi realizada através da quantificação da tartrazina remanescente no sobrenadante (não adsorvida no polímero). As medidas de refletância não foram realizadas diretamente no sólido pois a coloração intensa do material impediu usar o dispositivo de ATR.

Para a otimização dos parâmetros da massa de híbrido e tempo de adsorção em D-SPE, uma concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de tartrazina foi usada.

As diferentes massas de $\text{SiO}_2\text{-C=C@MIP}$ (ou $\text{SiO}_2\text{-C=C@NIP}$) foram colocadas em *vials* (Eppendorf®) em contato com 2,0 mL da solução de tartrazina $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, e deixados interagir por 20 minutos em homogeneizador circular. A seguir, as suspensões foram centrifugadas a 15000 rpm e o sobrenadante foi analisado por espectrofotometria UV/vis no comprimento de onda de máxima absorção do analito, 430 nm (Figura 11).

Após essa etapa, foi avaliado o tempo para alcançar o equilíbrio da adsorção da tartrazina no material. Para isto, usou-se a massa otimizada anteriormente. As soluções foram homogeneizadas em diferentes tempos (2, 4, 6, 8 e 10 min), centrifugadas e o sobrenadante usado para as medidas por espectrofotometria UV/Vis, para encontrar a massa de analito adsorvida no material.

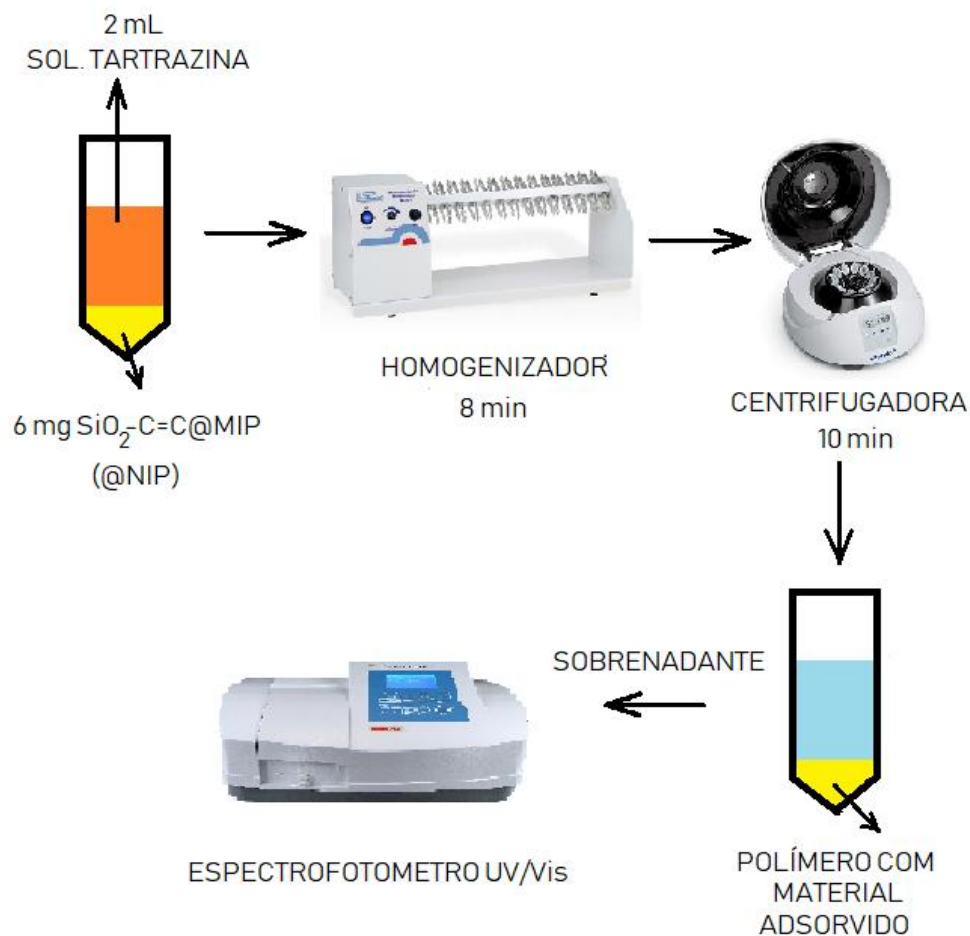


Figura 11: Procedimento de análise de adsorção da tartrazina com o $\text{SiO}_2\text{-C=C@MIP}$ (@NIP)

Fonte: O próprio autor

Finalmente, foi realizado o estudo do pH da solução contendo a Tartrazina, com a finalidade de obter uma maior adsorção deste analito no material. Para tal, foram estudadas soluções ácidas, uma vez que em soluções alcalinas a tartrazina não é estável [31]. Para isto, se preparou soluções de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de tartrazina em soluções com pH variando entre 2 e 6, seguindo os procedimentos descritos anteriormente.

A seguir a seletividade foi estudada usando os corantes mencionados na Tabela 2, nas condições até aqui otimizadas. A concentração das soluções contendo os corantes foi $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ a pH 3.

Com os parâmetros já otimizados, se avaliaram os materiais à base de sílica não funcionalizada ($\text{SiO}_2\text{@MIP}$ e $\text{SiO}_2\text{@NIP}$) com a finalidade de avaliar e comparar ambos polímeros sintetizadas. Neste caso as medidas foram realizadas por ATR usando o dispositivo Barreliño®, pois as características deste material permitiam o

uso do equipamento. Para tal, pesou-se 6 mg do polímero em *vials* e se acrescentou 2,0 mL de solução de tartrazina, deixando interagir por 8 minutos. Posteriormente, a mistura foi centrifugada, o sobrenadante decantado e os polímeros secos por 3 horas a 60 °C. Após cada amostra de polímero seco com tartrazina adsorvida foi analisada por ATR, tal como esquematizado na Figura 12.

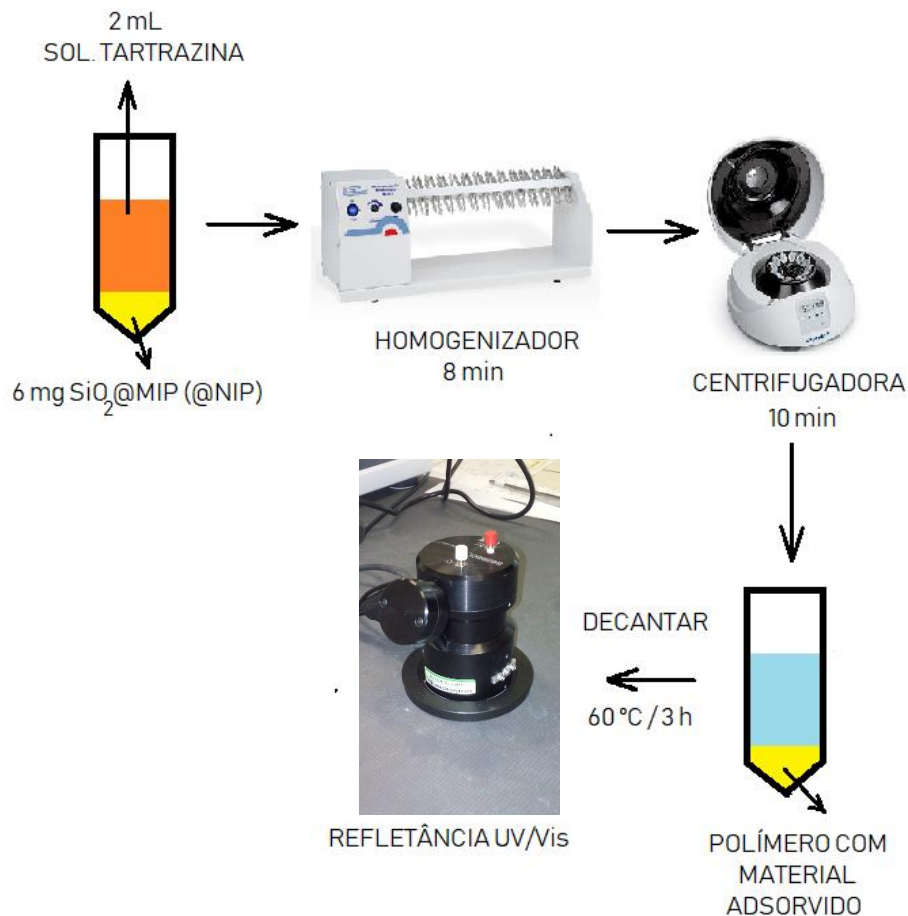


Figura 12: Procedimento de análise de adsorção da tartrazina com o SiO₂@MIP (@NIP).

Fonte: O próprio autor

3.5. Aplicação dos materiais em amostras reais

Os materiais sintetizados foram utilizados para a determinação de tartrazina em amostras reais (refrigerantes contendo o analito). O único pré-tratamento que foi realizado nas amostras, foi o de colocar no ultrassom por 10 minutos os refrigerantes para gaseificação.

Para cada material, usou-se o método mais adequado, segundo suas características, e os resultados obtidos foram comparados entre eles.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Espectro de absorção e curva analítica para a Tartrazina

Para determinar o comprimento de onda onde o corante Tartrazina apresenta máxima absorbância, foram realizadas medidas na faixa espectral entre 200 e 800 nm. O perfil de resposta dos espectros de absorção na região do UV-Vis da Tartrazina em diferentes concentrações é apresentado na Figura 13, junto com a curva de calibração com absorbância molar máxima em 430 nm.

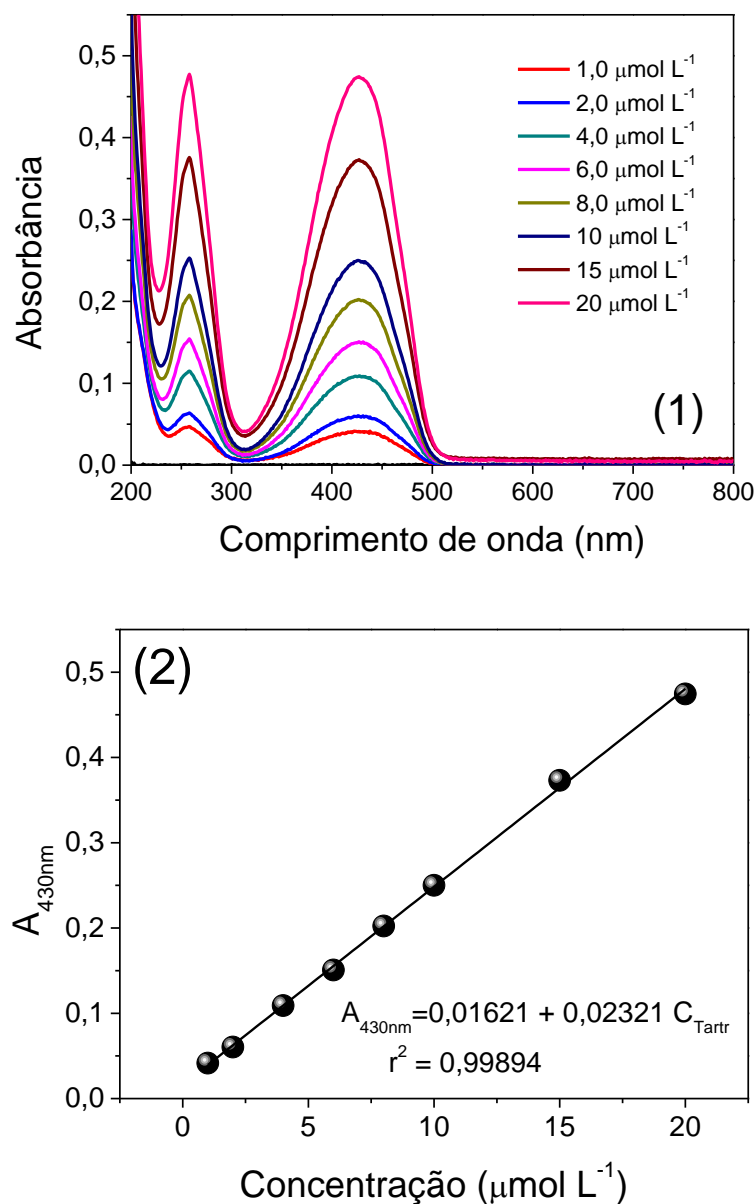


Figura 13: (1) Espectro de absorção na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante Tartrazina solubilizado em água. (2) Curva analítica referente à absorbância máxima no comprimento de onda de 430 nm.

Fonte: O próprio autor

O corante apresenta duas bandas de alta intensidade, a primeira em aproximadamente 257 nm, na região do ultravioleta, a qual é atribuída aos grupos aromáticos correspondente às transições eletrônicas das suas duplas ligações conjugadas, enquanto a segunda banda em 430 nm, correspondente à absorção referente ao grupo cromóforo azo (N=N) [32].

Também, foi possível estimar o valor da absorvidade molar (ϵ) sendo igual a 23.213 L mol⁻¹ cm⁻¹, indicando que a Tartrazina é um corante com alta eficiência comercial, pois pequenas quantidades permitirão alta coloração. Além do coeficiente de correlação ser igual a 0,99894 para a curva analítica.

4.2. Estudos relacionados aos materiais obtidos pelo método de precipitação

Depois de sintetizar e lavar os polímeros obtidos pelo método de precipitação, foram secados a 60 °C para a realização dos experimentos subsequentes.

4.2.1. Perfil da refletância atenuada dos sólidos

A Figura 14 mostra duas imagens correspondentes à adsorção de 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de tartrazina em 8,0 mg de NIP (a) e MIP (b) e obtidas usando o dispositivo de ATR-Barrelino®. Pode-se observar claramente a eficiência do MIP sintetizado, uma vez que a adsorção no material é evidente, permitindo dar continuidade aos experimentos subsequentes. Pode-se observar claramente que o NIP não adsorve o corante em nenhuma quantidade.

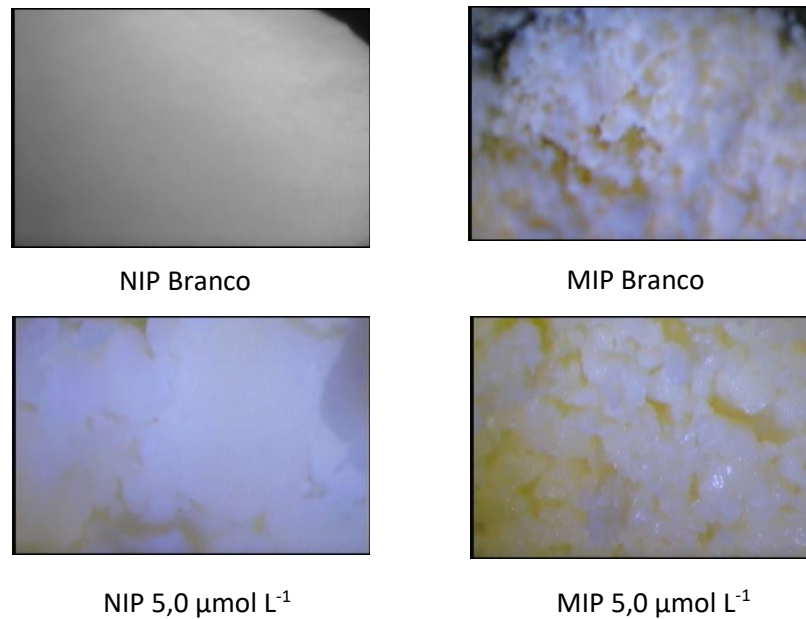


Figura 14: Imagens de refletância de sólidos obtidas pelo “Barrelino®” para os polímeros sintetizados pelo método da precipitação e usados na adsorção de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Tartrazina.

Fonte: O próprio autor

4.2.2. Estudos para avaliar o tempo de equilíbrio de adsorção para o MIP

Na otimização dos parâmetros experimentais para uso de polímeros adsorventes, o tempo no qual a adsorção atinge um patamar é o tempo de equilíbrio de adsorção. O primeiro experimento realizado foi utilizado para verificar o tempo de equilíbrio de adsorção e para tal experimentos foram realizados em diferentes tempos de adsorção tal como mostrado na Figura 15.

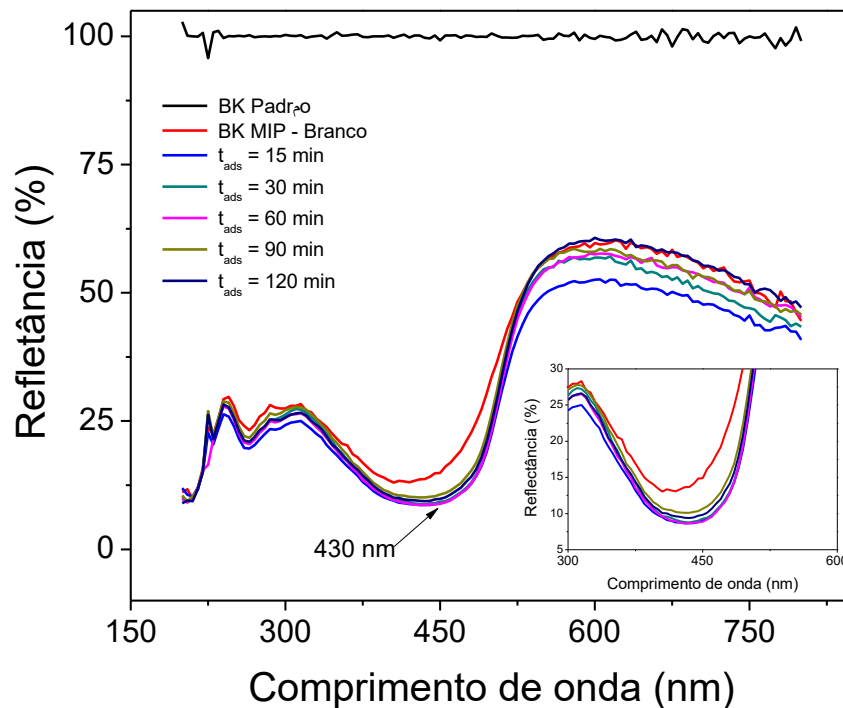


Figura 15: Espectros de refletância para a adsorção da tartrazina no MIP em diferentes tempos de interação. Medidas realizadas usando 8 mg de cada polímero contendo 1,0 mL de solução de tartrazina com $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. Após cada tempo o polímero foi separado por centrifugação e seco a 50°C em estufa durante 3 h. Na Figura inserida, apresenta-se um zoom na região de comprimento de máxima absorção. BK Padrão, corresponde à medida de um padrão de Refletância (que já vem com o equipamento). BK MIP-Branco, corresponde ao MIP sem analito (tempo zero).

Fonte: O próprio autor

Da Figura anterior pode se observar que o tempo de interação de 60 minutos, permite alcançar o equilíbrio da adsorção da tartrazina no polímero impresso, assim nos estudos posteriores este foi o tempo de interação usado para este material.

4.2.3. Estudos de adsorção do MIP

Com os parâmetros de massa e tempo de equilíbrio otimizados, se estudará os mecanismos de adsorção tanto para o MIP, quanto para o NIP.

A seguir, foi investigada a refletância diretamente nos materiais com diferentes concentrações de tartrazina adsorvida, e os espectros obtidos são mostrados na Figuras 16(a) e (b).

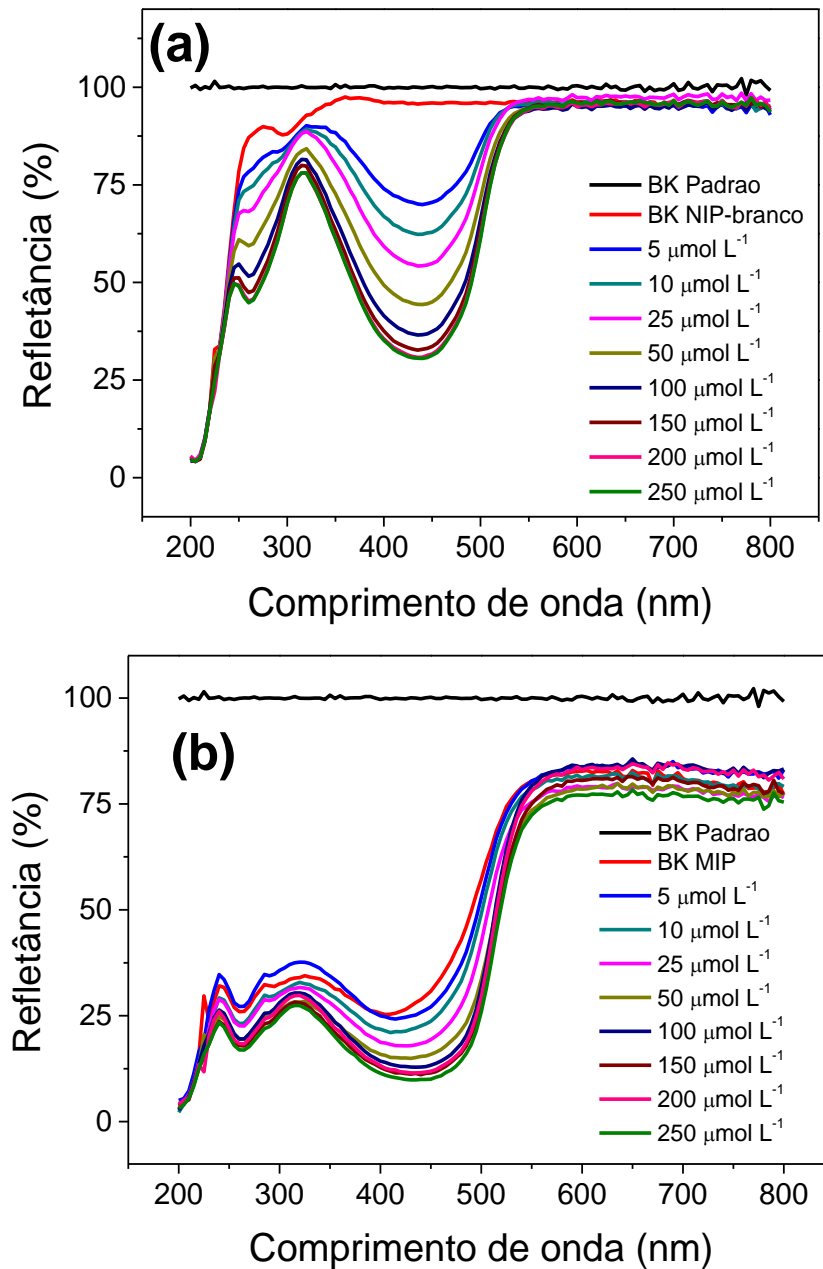


Figura 16: Espectros de refletância em sólido de diferentes concentrações de tartrazina adsorvida no NIP (a) e no MIP (b). Medidas realizadas usando 8,0 mg de cada polímero contendo 1,0 mL de solução de tartrazina (nas diferentes concentrações) e misturados durante 60 min. Após este tempo o polímero foi separado por centrifugação e seco a 50 °C em estufa durante 3 h.

Fonte: O próprio autor

Observa-se claramente que a variação da refletância no MIP é muito menor que a do NIP, pois apesar das exaustivas lavagens, sempre persistiu uma coloração de fundo no polímero impresso, que é proveniente do corante que não foi possível ser retirado ao 100%, devido a interação deste com seu monômero funcional,

principalmente ao interior dos polímeros sintetizados. Entretanto, mesmo com esta dificuldade, este resultado preliminar, mostrou que uma maior quantidade de tartrazina foi adsorvida no polímero impresso, uma vez que é evidente que a refletância obtida foi muito menor, indicando maior quantidade de espécies absorvedoras (analito) no polímero impresso - MIP.

Com os espectros obtidos na Figura 14, foram construídas as correspondentes isotermas de adsorção, obtidas de forma direta, pois a medida de refletância em sólido permite registrar a quantidade de analito adsorvido no material, sem etapas adicionais, como ocorre quando se usa o cálculo indireto com a solução contendo o analito remanescente, não adsorvido.

Desta forma, as Figuras 17 (a) e (b) mostram as isotermas de adsorção obtidas, usando o parâmetro da diferença da %refletância ($\Delta\%R$) a 430 nm em função da concentração.

Conforme as isotermas mostradas nessas Figuras, se conseguiu estimar que a adsorção do corante em ambos os materiais segue um comportamento descrito pelo modelo de Langmuir-Freundlich (equação 4). O modelo de adsorção de Langmuir descreve que a superfície é homogênea e que a adsorção ocorre através de monocamadas, já o modelo de Freundlich, sugere que a superfície é heterogênea e, devido a essa característica, existem vários sítios disponíveis para a adsorção. O modelo de Langmuir-Freundlich é um modelo matemático que descreve um fenômeno intermediário entre ambos modelos [33].

$$y = \frac{a (b x)^{(1-c)}}{1+(b x)^{(1-c)}} \quad (\text{eq. 4})$$

Onde: y é a quantidade de analito adsorvido (mg g^{-1}); a é a capacidade de adsorção do sistema, ou também é a medida do número total de vagas por grama de sorvente (mg g^{-1}); x é a concentração na fase aquosa no equilíbrio (mg L^{-1}); b é a constante de afinidade para adsorção (L (mg)^{-1}) e $1-c$ (ou n) é o índice de heterogeneidade [33].

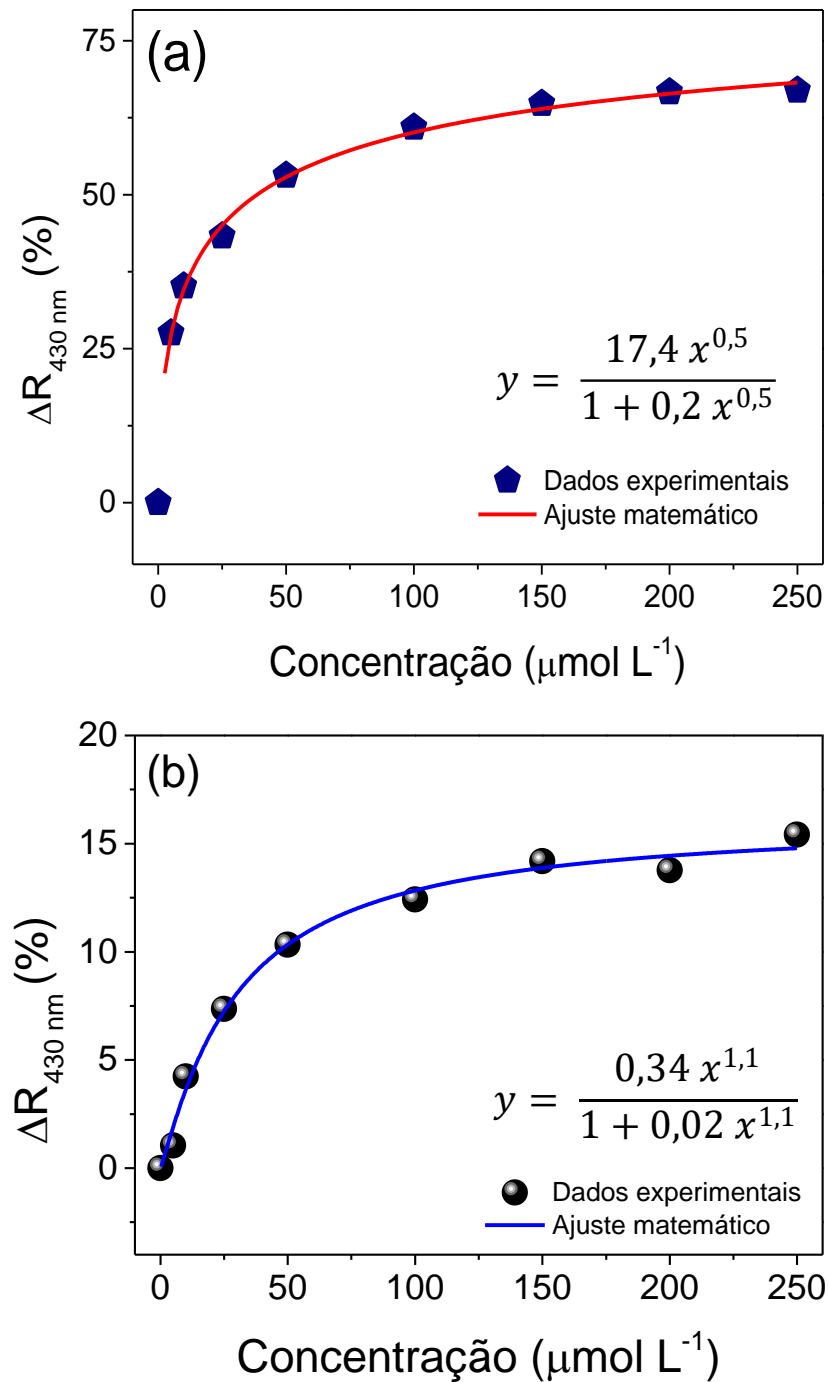


Figura 17: Perfil das isotermas de adsorção da tartrazina no NIP (a) e no MIP (b), obtidas nas condições previamente otimizadas.

Fonte: O próprio autor

Pode-se observar que embora a medida da refletância direta nos materiais adsorventes permita elucidar corretamente o modelo da adsorção do corante nos polímeros estudados, a coloração de fundo do MIP dificultou a realização dos experimentos, dando uma ideia equivocada de que o NIP tem melhor desempenho

que o MIP. Cabe ressaltar que o uso desta técnica é recente, e nenhum trabalho tem sido relatado na literatura com esta finalidade, apenas, segundo nosso conhecimento, tem sido usada neste grupo de pesquisa, e está ainda em etapa exploratória

4.2.4. Estudos para avaliar a eficiência da dessorção

Com base no parágrafo anterior estudou-se a eficiência da dessorção do analito do polímero impresso, com a finalidade de avaliar este procedimento na quantificação do corante. Para isto, 1,0 mL de solução de dessorção (que é a mesma da lavagem) constituída pela mistura de água e amônia na proporção 8:2 (v/v), foi colocada em um Ependorf contendo o polímero com o analito adsorvido, e foi submetida a agitação contínua durante 24 horas. A seguir, a dispersão foi centrifugada e o sobrenadante foi usado para quantificação do analito por espectrofotometria UV/Vis (Figura 18), empregando, uma curva de calibração (Figura 18) para tartrazina obtida em água/amônia (8:2, v/v).

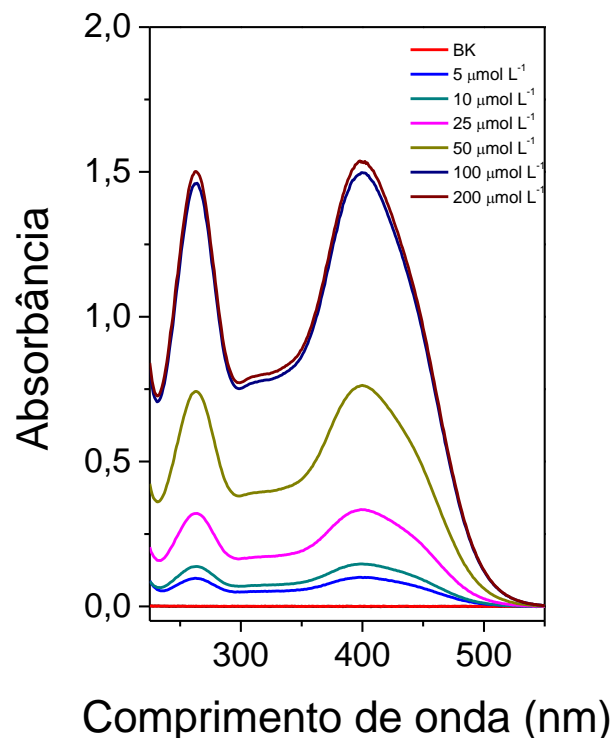


Figura 18: Espectros de absorvância da tartrazina em solução água/amônia (8:2, v/v)

Fonte: O próprio autor

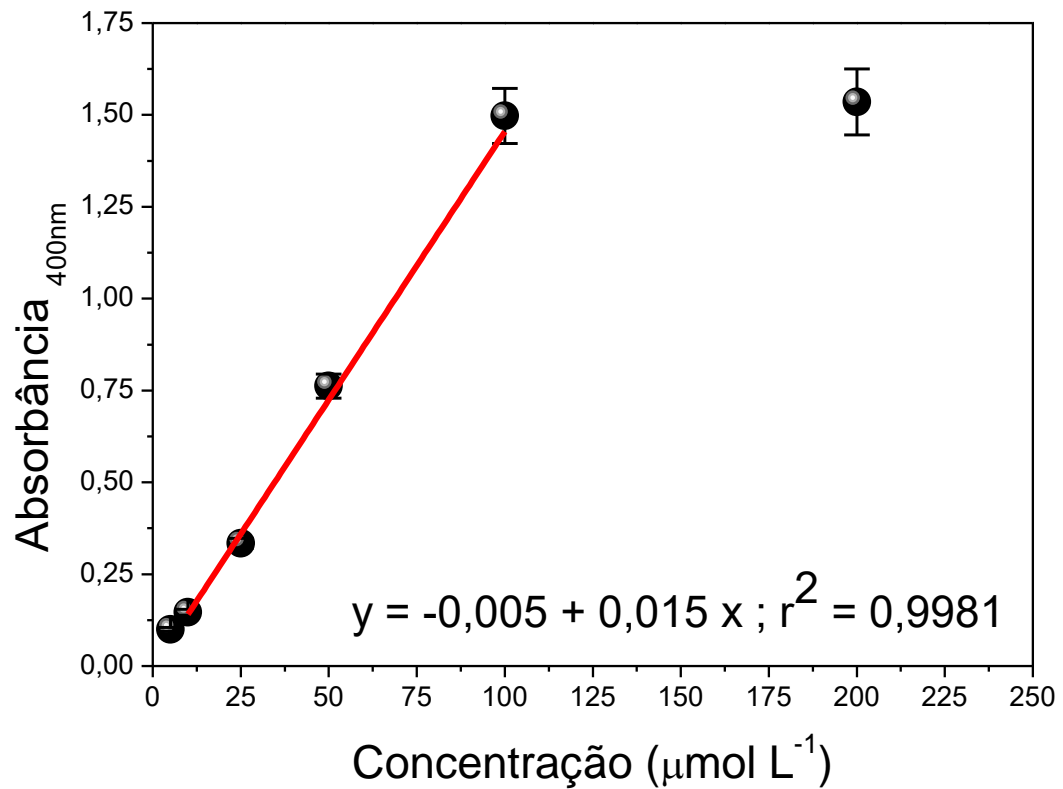


Figura 19: Curva analítica para a tartrazina obtida em solução de água/amônia (8:2, v/v)

Fonte: O próprio autor

A faixa de resposta linear foi de 10 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e com uso da equação da reta e dos experimentos de dessorção foi construída a Tabela 3.

Tabela 3: Porcentagem de recuperação da tartrazina após dessorção do MIP com solução de água/amônia 8:2 (v/v).

Quantidade de tartrazina $\mu\text{mol L}^{-1}$		Recuperação (%)
Inicialmente no sólido	Na dessorção	
10,00	16,09	160,9
25,00	32,77	131,1
50,00	62,45	124,9
100,0	91,08	91,08

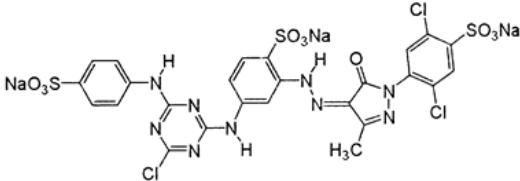
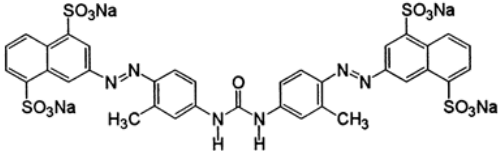
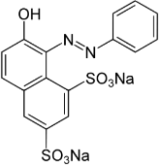
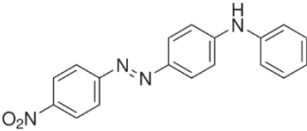
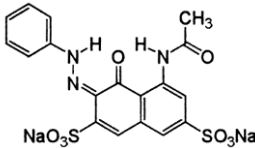
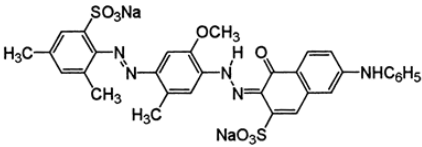
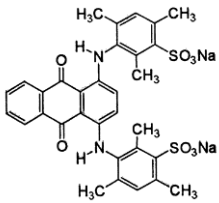
Fonte: O próprio autor

Pode ser observado da Tabela 3 que a dessorção do analito variou entre 160% e 91% em baixas e altas concentrações, respectivamente, não sendo confiáveis até a concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$, uma vez que os valores da recuperação foram maiores que o valor previsto. Isto pode ser explicado, devido a que moléculas de corante confinadas no interior do polímero, e que não puderam ser removidas na etapa de lavagem, podem ser extraídas juntamente com aquelas da amostra, elevando a concentração da tartrazina nos experimentos de dessorção. Neste caso, o único experimento que forneceu resultados satisfatórios foi aquele que corresponde à concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$.

4.2.5. Estudos preliminares de seletividade

Mesmo com os resultados ainda não conclusivos, um teste preliminar foi realizado para avaliar a seletividade desses materiais, e que permitirão comparar o ganho obtido com os polímeros que serão posteriormente sintetizados. Para isto, foi realizado um estudo da adsorção de diferentes corantes (Tabela 4). Os experimentos foram realizados usando $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada corante e as medidas realizadas nas condições até aqui otimizadas, usando a medida de refletância direta no sólido. O resultado deste estudo é mostrado na Figura 14, a seguir.

Tabela 4: Estruturas químicas dos corantes usados para o estudo da seletividade neste trabalho.

Compostos	Estrutura	Comprimento de onda
Amarelo 2R (A2R)		450 nm
Amarelo Direto 50 (AD50)		400 nm
Laranja G (LG)		475 e 400 nm
Laranja 1 Disperso (L1D)		500 nm
Ácido Vermelho 1 (AV1)		505 e 530 nm
Violeta Direto 51 (VD51)		395, 540, 585 e 625 nm
Ácido Azul 80 (AA80)		548 nm

Fonte: O próprio autor

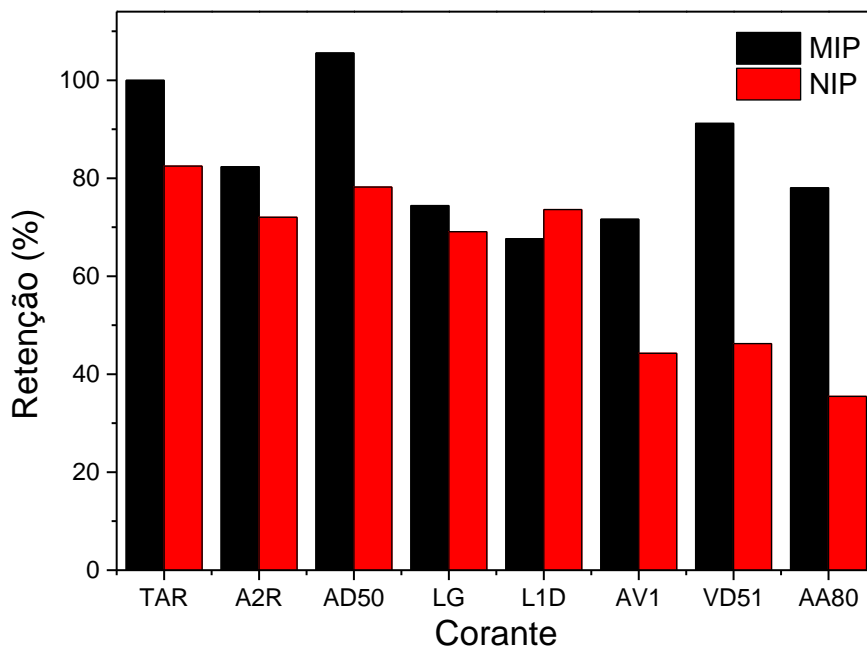


Figura 20: Perfil da seletividade do MIP e NIP, registrada pela refletância de sólidos para cada corante avaliado. Tendo a variação da refletância mostrada pelo analito (TAR) como 100% da quantidade retida de analito, e as outras sendo proporcionais segundo cada valor obtido para cada interferente.

Fonte: O próprio autor

Dos dados da Figura 20, se observa que para os corantes Amarelo 2R (A2R), Laranja G e Laranja 1 Direto, as possíveis interações com o polímero poderiam se dar pelos grupos aromáticos. Já no caso, em particular do A2R, ao possuir cloretos em um dos grupos aromáticos, a elevada densidade eletrônica aumenta a interação com o material, ocorrendo uma maior adsorção inespecífica, e conseqüentemente observando-se um maior sinal intenso.

Observa-se que a maior interferência foi a do corante Amarelo Direto 50 (*Direct Yellow 50*). Isto pode ser devido a que o comprimento de onda de máxima absorção coincidiu com aquele apresentado pela tartrazina e que a grande quantidade de grupo aromáticos interagem com os grupos vinilos dos monômeros, além disso, o corante tem dois grupos azo que estariam interagindo com o polímero.

Para os corantes com um comprimento de onda de máxima absorção diferente daquele correspondente ao analito, a interferência observada pode ser explicada devido a que o polímero interage com os anéis aromáticos dos corantes. O sinal é registrado (Figura 20), mesmo assim, pois os corantes absorvem nesse comprimento de onda do analito, embora não sendo o máximo de absorção.

Cabe ressaltar que para este material todos os corantes avaliados apresentaram uma interferência importante e acima de 60%, indicando que o polímero deveria ser melhorado.

4.2.6. Aplicação dos polímeros sintetizados em amostras de alimentos contendo tartrazina

Visando a aplicação em amostras de alimentos industrializados contendo tartrazina foram realizados experimentos usando a refletância diretamente no sólido e também a dessorção, uma vez que, tal como comentado anteriormente, o analito ficou retido no material mesmo após exaustivas lavagens. Entretanto, salientamos que estes experimentos, ao igual que a seletividade, serviram para comparação com as sínteses posteriores.

Antes de proceder à análise das amostras usando os polímeros, foi escolhido o método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) como método de análise para a quantificação da tartrazina nos experimentos de dessorção, e como método de referência para quantificar a tartrazina nas amostras analisadas.

As Figuras 21 e 22 mostram um cromatograma típico obtido para o analito e a correspondente curva analítica.

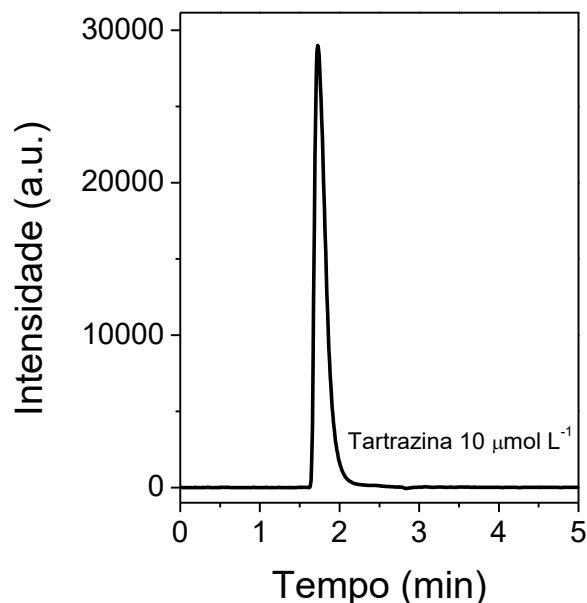


Figura 21: Cromatograma do HPLC de Tartrazina 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com fase móvel de metanol: tampão fosfato 0.01 mol.L⁻¹ pH 7 (90:10 v/v) com fluxo de 1 mL.min⁻¹. (HPLC Shimadzu Prominence, Degassing Unit DGU-20A 5R, Liquid Chromatograph LC-20AT, Communications Bus Module CBM-20A, UV/VIS Detector SPD-20A, Auto Sampler SIL-20A)

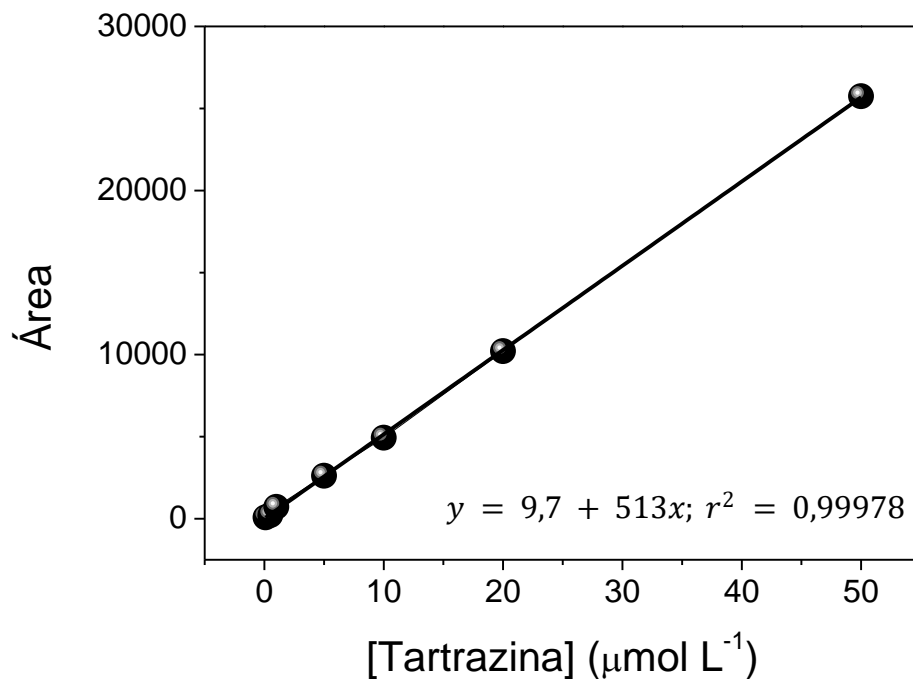


Figura 22: Curva analítica obtida conforme o procedimento descrito na Figura 21.

Fonte: O próprio autor

Se analisaram três refrigerantes contendo o analito, o refrigerante I tem uma coloração amarela intensa e é feito a partir de erva doce, os refrigerantes II e III tem coloração laranja e são feitos a partir de suco de laranja, além disso, o refrigerante II tem um maior teor de açúcar que o refrigerante III.

Na Tabela 5, pode-se observar que para a amostra “tipo I” (amarela) analisada por refletância do sólido e dessorção, os dados obtidos são muitos maiores que no método de referência. Esta diferença pode ser devido à presença de algum interferente presente na amostra e que pode ter um comprimento de onda próximo ao do comprimento de onda do analito.

Esta hipótese foi confirmada quando foram realizadas as análises de dessorção do analito, uma vez que, nestas amostras, tanto o analito como o interferente foram encontrados pelo método cromatográfico, tal como mostrado na Figura 23, que apresenta mais de um pico.

Tabela 5: Teores de Tartrazina encontrados usando os diferentes métodos propostos

Amostras	Método Referência	Método Refletância	Método Dessorção
	[Tartrazina] ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		
Refrigerante I	$2,89 \pm 0,04$	20 ± 9	$23,5 \pm 0,4$
Refrigerante II	$3,5 \pm 0,4$	3 ± 1	$3,07 \pm 0,04$
Refrigerante III	$3,9 \pm 0,5$	5 ± 1	$2,7 \pm 0,5$

Fonte: O próprio autor

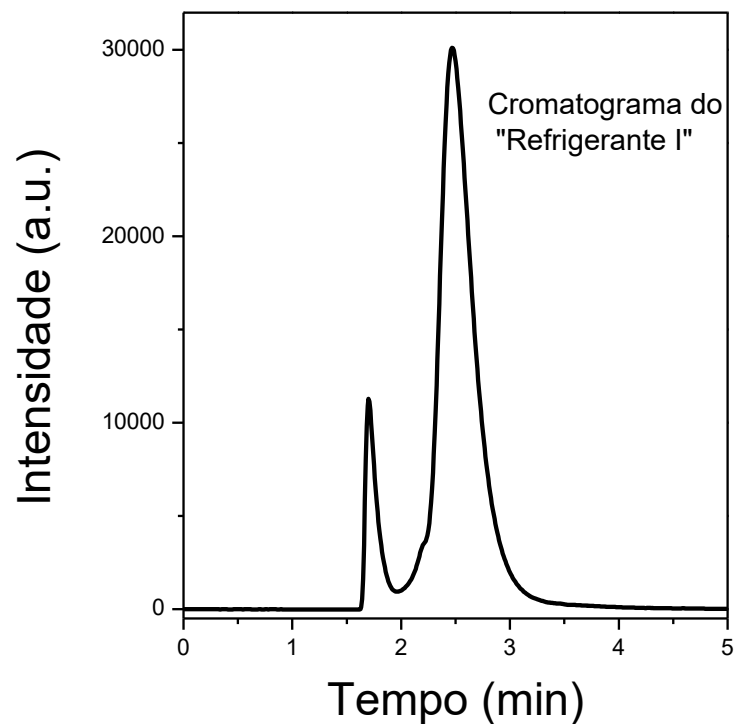


Figura 23: Cromatograma do HPLC de uma injeção de 20 μL da amostra refrigerante do “tipo I” com fase móvel de metanol: tampão fosfato 0.01 mol L^{-1} pH 7 (90:10 v/v) com fluxo de 1 mL min^{-1} .

Fonte: O próprio autor

Já os resultados obtidos para as amostras do “tipo II” e “tipo III” que tem cor laranja, foram menores e mais próximos dos valores reais. Entretanto, ainda não sendo completamente satisfatórios.

Por todas as razões já justificadas, foi realizada outra síntese de um novo material, com a finalidade de melhorar os resultados até aqui obtidos.

4.3. Estudos relacionados aos materiais obtidos pelo método *core@shell*

Depois de sintetizar os “*core*” de sílica, a seguinte etapa foi a síntese do MIP na superfície de cada *core* através do formato *core@shell*, posteriormente os híbridos foram devidamente lavados e secados a 60 °C para estudos subsequentes.

4.3.1. Polímeros híbridos à base de sílica funcionalizada com γ -MPS

A Figura 24 mostra a aparência dos materiais sintetizados com *core* de $\text{SiO}_2\text{-C=C}$ no formato *core@shell*, após limpos e secos.

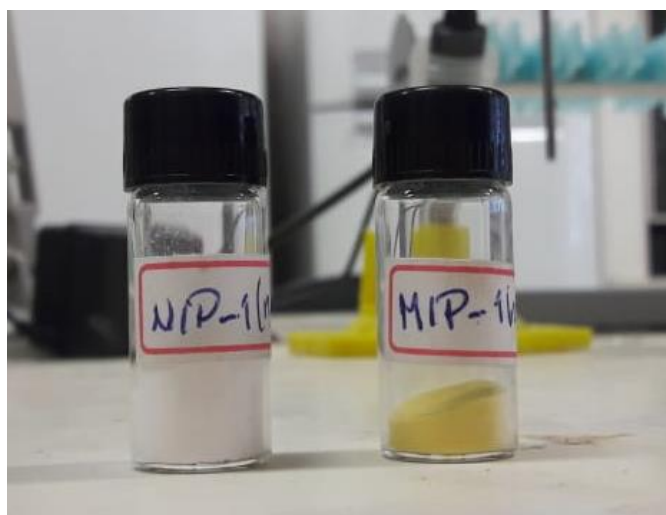


Figura 24: Fotografias dos materiais híbridos *core@shell* sintetizado usando como núcleo as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-C=C}$.

Fonte: O próprio autor

Claramente, percebe-se uma coloração amarela intensa para o material $\text{SiO}_2\text{-C=C@MIP}$, o qual foi inclusive mais intenso que para o MIP convencional (precipitação), obtido na etapa inicial do trabalho. Este fato pode ser explicado pela forte afinidade que o corante apresentou pelo γ -MPS. Este resultado inesperado, limitou a aplicação do material nas análises diretamente no sólido. Assim que nesta parte do trabalho foram usadas medidas indiretas, avaliando a concentração do analito remanescente no sobrenadante, e que por diferença, permitiu calcular a concentração de tartrazina adsorvida no material *core@shell*.

4.3.1.1. Estudos de otimização e avaliação do material

Para os estudos de otimização e avaliação deste material, usou-se a concentração de tartrazina de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Inicialmente foi otimizada a massa do híbrido para os experimentos em D-SPE, avaliando diferentes massas do material em 2,0 mL da solução de tartrazina durante 20 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi analisado no espectrofotômetro UV/Vis, para estimar a tartrazina adsorvida no material. Este procedimento foi realizado em todos os experimentos realizados com este material híbrido à base de sílica funcionalizada com γ -MPS.

Na Figura 25 pode-se observar que as maiores diferenças entre o MIP e o NIP foram entre 2 mg e 6 mg de material, e que a máxima adsorção foi obtida a partir de 6 mg de material híbrido, sendo este valor usado nos experimentos subsequentes.

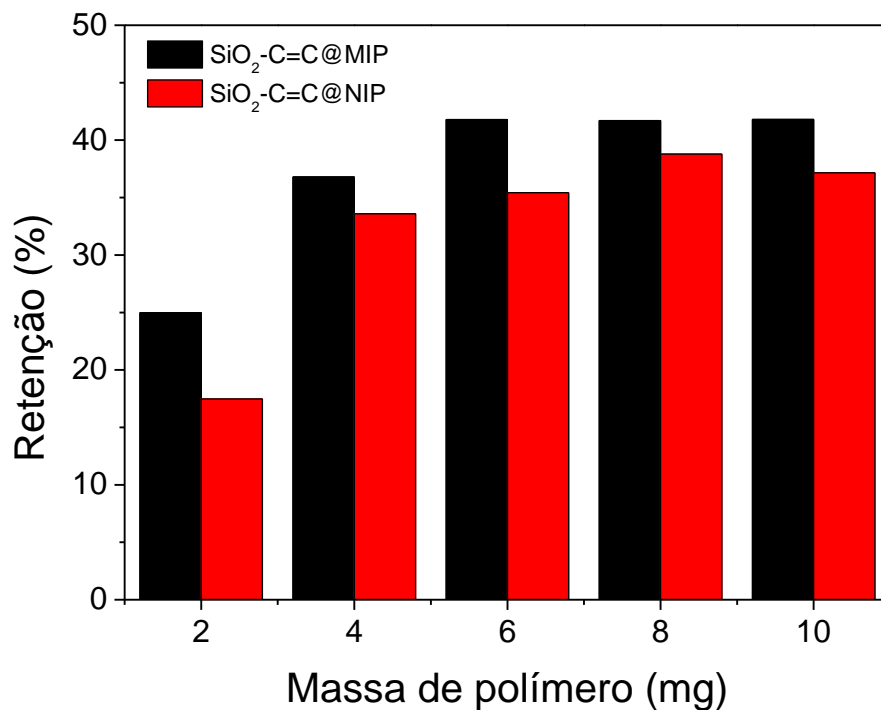


Figura 25: Perfil da porcentagem de tartrazina adsorvida em função da massa de material híbrido usada nos experimentos de extração em D-SPE. Medidas realizadas em soluções aquosas contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de tartrazina em água ultrapura.

Fonte: O próprio autor

Uma vez otimizada a massa de material, o seguinte estudo que foi realizado, teve como objetivo investigar o pH da solução que permitiria obter a maior adsorção de analito.

Para isto, foram preparadas soluções de tartrazina ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) com diversos valores de pH e misturadas com 6 mg de cada polímero por 20 minutos.

Pode-se observar na Figura 26 que em soluções ácidas obtém-se valores de retenção de quase 100%, sendo de 95% para o pH 2 e 91,5% para o pH 3. Embora, a diferença de %retenção entre MIP e NIP foi maior para o pH 2, optou-se por escolher o pH 3 devido a que as amostras comerciais que seriam analisadas neste trabalho possuem este valor de pH.

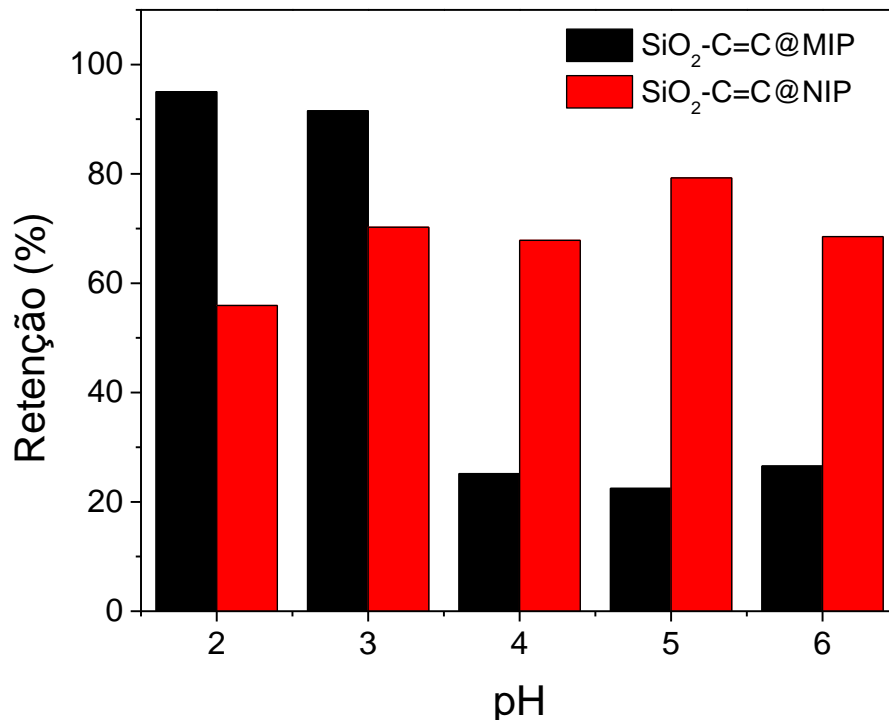


Figura 26: Perfil da porcentagem de tartrazina adsorvida em função do pH da solução de extração.

Medidas realizadas usando 6 mg de material híbrido e soluções de tartrazina contendo $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ preparada em diferentes pH.

Fonte: O próprio autor

Com os parâmetros otimizados até o momento, a seguir, foi realizado o estudo do tempo de interação para atingir o equilíbrio da adsorção. Para isto, foram avaliados tempos entre 2 e 15 min, e os resultados obtidos são mostrados na Figura 27.

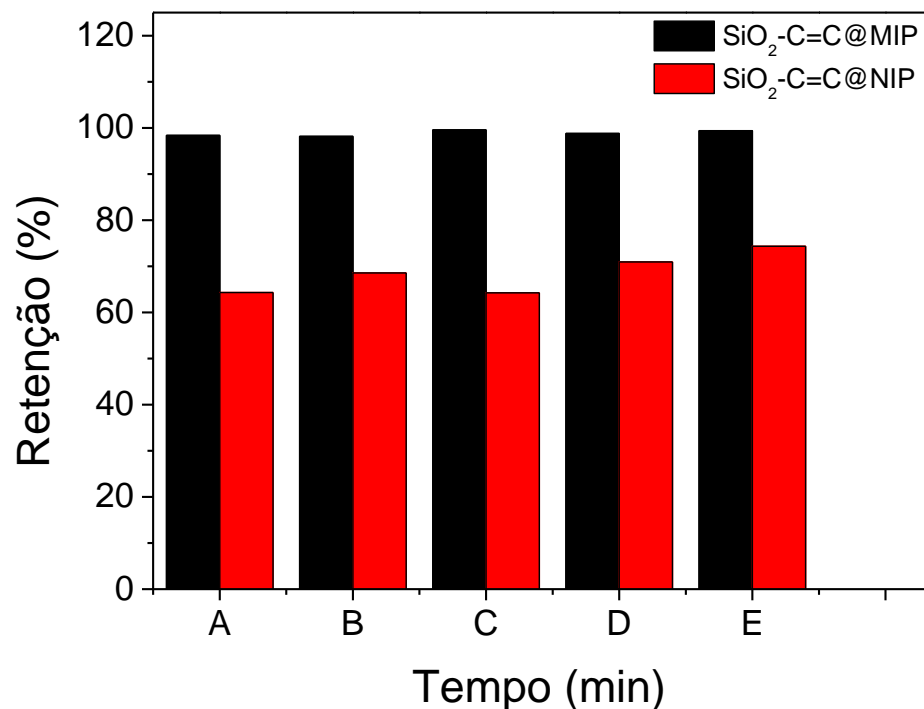


Figura 27: Perfil da % de retenção do corante em função do tempo de interação (A-E = 2, 4, 8, 12, 15 minutos).

Fonte: O próprio autor

Pode ser observado que o material híbrido alcança rapidamente o equilíbrio de adsorção da tartrazina, sendo menor daquele mostrado pelo material convencional (60 min). Isto pode ser atribuído a que no formato *core@shell* as cavidades seletivas se encontram mais expostas, uma vez que o polímero é sintetizado na superfície do suporte, SiO₂-C=C, melhorando a transferência de massa e, com isto diminuindo o tempo para atingir o equilíbrio de adsorção com seu analito. Neste caso, foi escolhido um tempo de equilíbrio de 8 minutos, pois há maior diferença na porcentagem da retenção entre o MIP e o NIP, permitindo executar os experimentos de forma mais sistemática.

Uma vez otimizados os parâmetros da adsorção por D-SPE com o primeiro material híbrido sintetizado, foram plotados os gráficos de %retido vs a concentração da tartrazina (Figura 28). Nessa figura pode-se observar que até 10 µmol L⁻¹ o SiO₂-C=C@MIP adsorve mais que o SiO₂-C=C@NIP, para concentrações acima desse valor a adsorção de ambos polímeros é praticamente a mesma. Entretanto, este resultado poderá ser contornado, se a seletividade do material híbrido impresso, for melhor que a do não-impresso, discriminando assim as interações seletivas daquelas não-seletivas. É evidente que o SiO₂-C=C@MIP satura rapidamente, e isto

pode ser explicado devido à alta quantidade de analito que se mantém ligada ao material desde o processo de síntese.

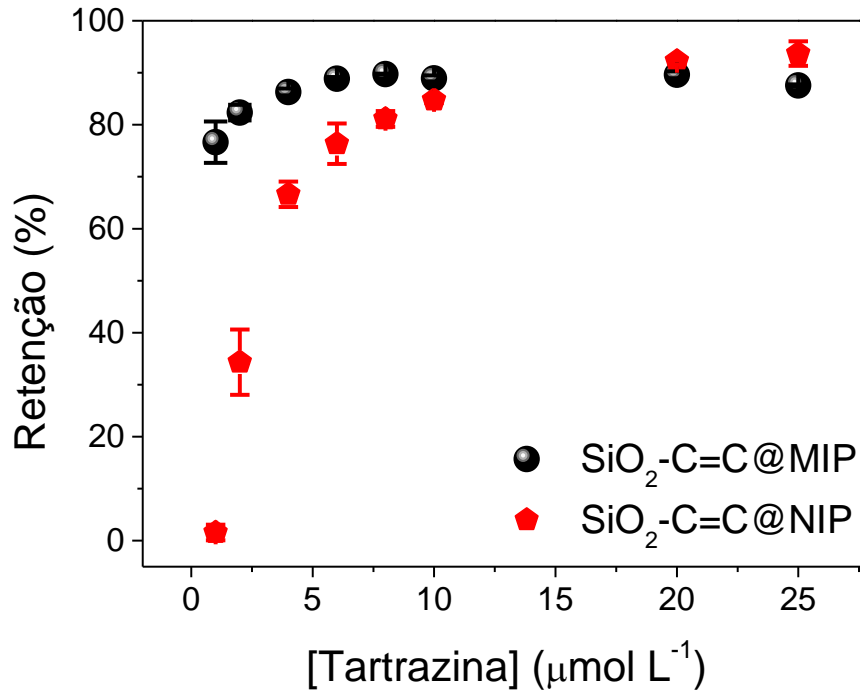


Figura 28: Isotermas de adsorção para tartrazina pelos materiais core@shell com núcleo de SiO₂-C=C.

Fonte: O próprio autor

4.3.1.2. Avaliação da seletividade

Nos experimentos realizados para avaliar a seletividade deste material, foi obtida a Figura 29, na qual se mostra o perfil encontrado para os diferentes corantes mostrados na Tabela 4.

Pode-se observar que comparado com o polímero convencional (Figura 14) a seletividade foi visivelmente melhorada, uma vez que os compostos interferentes ficaram retidos no material híbrido em quantidades muito inferiores, mesmo para aqueles compostos com estrutura química similar e com coloração próxima ao amarelo (comprimento de onda próximo ao da tartrazina). A exceção foi para o composto AD50 (Amarelo Direto 50) que uma vez mais mostra interferência significativa, é que deverá ser tomado em consideração para análises da amostra real. (Figura 29)

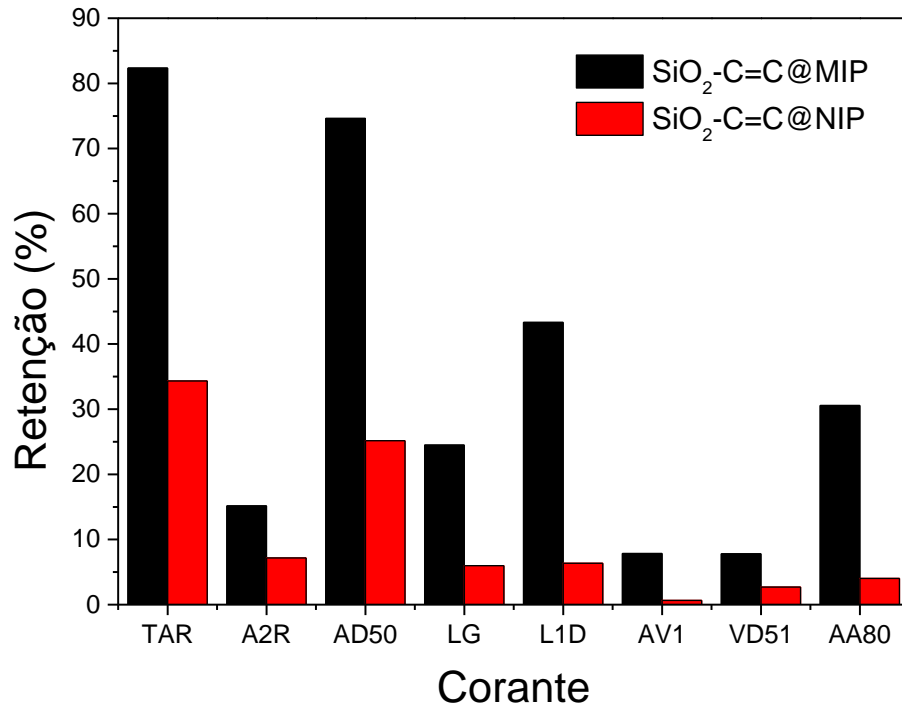


Figura 29: Perfil da seletividade dos materiais core@shell com núcleo de SiO₂-C=C. Concentração das soluções dos corantes de 2 μmol L⁻¹. Valores obtidos usando a solução remanescente após os experimentos de D-SPE e usando a espectrofotometria de UV-Vis.

Fonte: O próprio autor

4.3.1.3. Avaliação na quantificação de Tartrazina em amostras de alimentos

Com todos os resultados obtidos, a próxima etapa a ser realizada foi a análise de amostras de alimentos industrializados. Para isto, usou-se a solução remanescente após a interação com o material e, a também usou-se o procedimento de dessorção da tartrazina usando solução de amônia previamente otimizada (água/amônia, 8:2 v/v), sendo realizadas todas as quantificações usando HPLC, e os resultados obtidos são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6: Teores de Tartrazina encontrados usando o polímero híbrido do tipo core@shell

Amostras	Método Referencia	Método Sobrenadante	Método Dessorção
	[Tartrazina] (μmol L ⁻¹)		
Refrigerante I	2,89 ± 0,04	2,3 ± 0,6	21 ± 1
Refrigerante II	3,5 ± 0,4	73 ± 8	3,0 ± 0,3
Refrigerante III	3,9 ± 0,5	76 ± 6	4,01 ± 0,08

Fonte: O próprio autor

Dos dados expostos na Tabela 6, pode-se observar que para a amostra de refrigerante “tipo I” (cor amarela) a quantidade de analito na amostra, pode ser calculada com exatidão, usando o método indireto pelo sobrenadante, pois ao segundo o teste t-student, onde o $t_{\text{calculado}}$ (1.70) foi menor ao $t_{\text{teórico}}$ (2.92), pelo que o método do sobrenadante é comparável ao método de referência.

Os cálculos foram realizados, considerando que a porcentagem máxima de adsorção é de 91% em solução padrão de Tartrazina, e sendo conferido pelo valor obtido pela cromatografia para o analito no sobrenadante (que corresponderia a 9% do total de tartrazina).

Isto não ocorre quando são analisadas as amostras de refrigerantes “tipo II” e “tipo III” de coloração laranja, nas quais o teor de “tartrazina” encontrado é muito maior que o previsto. Isto pode ser explicado devido a que o polímero ao adsorver seletivamente o analito, deixa a outros compostos no sobrenadante que não foram adsorvidos pelo material, sendo todos estes compostos detectados pelo equipamento, principalmente aqueles da mesma coloração.

Entretanto, após o *clean up* da amostra, os valores de tartrazina encontrados após a dessorção do analito permite obter concentrações coerentes com o valor de referência. Pois, devido que o material híbrido adsorve seletivamente ao analito, na etapa de dessorção, só será extraído o analito que foi previamente adsorvido sem nenhuma interferência.

Isto último não ocorre quando usada a dessorção para o refrigerante tipo I, de coloração amarela, pois em coerência com os valores da Tabela 6 e Figura 29, há uma forte interferência, e que pode se tratar do Amarelo Direto 50 (AD50) que após ser adsorvido a partir do refrigerante, é também dessorvido com a solução de água/amônia usada, que em conjunto com o analito dessorvido se obtém uma sinal maior ($21 \pm 1 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Uma vez que, o método indireto não foi satisfatório para a aplicação destes materiais híbridos, e também não foi possível o uso de medidas diretas usando ATR, buscou-se outra solução para melhorar a síntese do material.

4.3.2. Polímeros híbridos à base de sílica sem funcionalizar

A sílica é conhecida por sua alta porosidade, baixo custo e síntese simples, por estas razões foi escolhido como suporte, além disso, as propriedades óticas do material permitirão usar o método de refletância diretamente no sólido com o material colorido adsorvido para a determinação de tartrazina.

Para a síntese de sílica sem funcionalizar, se misturou TEOS em etanol em meio básico e submeteu-se a agitação por uma hora. Posteriormente, se centrifugou e se decantou, para finalmente lavar múltiplas vezes com etanol para obter as partículas de sílica sem funcionalizar (item 3.4.1).

4.3.2.1. Estudos de otimização e avaliação do material

Para resolver a coloração amarela intensa do material anterior, à base de sílica funcionalizada, foram estudados os diferentes parâmetros de síntese (suporte, monômero funcional, monômero estrutural) do último material híbrido. O parâmetro a ser avaliado será a completa remoção do analito, que se manifestará na menor coloração amarelada, porém sem perder a capacidade de adsorção específica e seletividade do material.

Se sintetizou outro material, mudando o suporte, para sílica sem funcionalizar, SiO_2 , usada como core. Os materiais foram sintetizados inicialmente tal como aquele usando a sílica funcionalizada. Esta nova síntese, visou diminuir a intensidade da cor do material, uma vez que sem o γ -MPS já não ocorreria a ligação covalente com os átomos de oxigênio presentes nos grupos sulfônicos da molécula de tartrazina. Esta nova estratégia, permitiria obter polímeros sem cor, ou menos coloridos, e desta forma o material obtido seria mais sensível à pequenas concentrações de analito.

Adicionalmente, nesta etapa também foi avaliada a influência da quantidade do suporte, SiO_2 . Neste caso foram usadas 100 mg e 300 mg de SiO_2 nas sínteses, mantendo todos os outros parâmetros iguais aos procedimentos até aqui descritos. Para fins comparativos, também foram sintetizados materiais com a sílica funcionalizada.

Na Figura 30, são mostrados os espectros de refletância dos materiais sólidos usando medidas de ATR, onde se observa que diminuindo em três vezes a quantidade de suporte de $\text{SiO}_2\text{-C=C}$, a intensidade de cor do material após limpo, diminui. Isto,

pode ser explicado devido ao menor número de moléculas de silano levando a menor quantidade de moléculas de tartrazina a fazer ligações covalentes na superfície do material.

Por outro lado, para os materiais com núcleo de SiO_2 , a diferença da intensidade de cor entre eles é pequena. Pelo que se pode concluir, que para este segundo material quantidade de suporte não é um fator determinante na coloração do material, corroborando que a coloração do material à base de sílica funcionalizada com MPS é um fator diretamente relacionado a quantidade de ligações $-\text{C}=\text{C}$ com a Tartrazina.

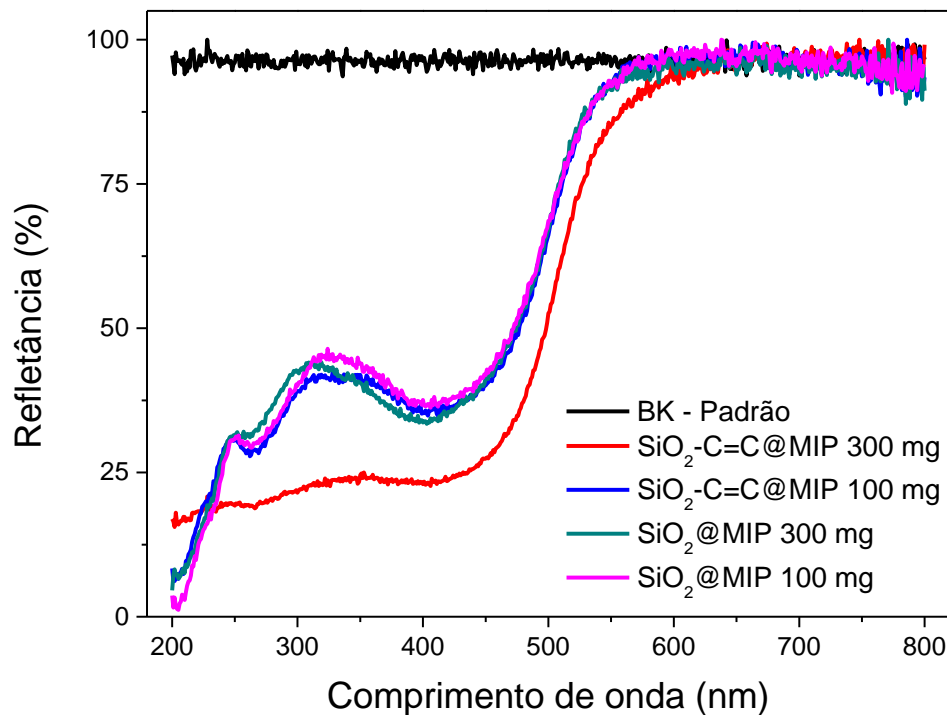


Figura 30: Espectro de refletância dos materiais sintetizados pelo método core@shell. BK-Padrão, corresponde a um padrão de refletância.

Fonte: O próprio autor

Com a finalidade de escolher o material a ser sintetizado para os estudos posteriores, foram realizados experimentos de adsorção usando os 4 materiais sintetizados até este ponto. Os resultados estão mostrados na Tabela 7, e mostram as variações de %R, obtidas quando foram analisadas amostras de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Tartrazina.

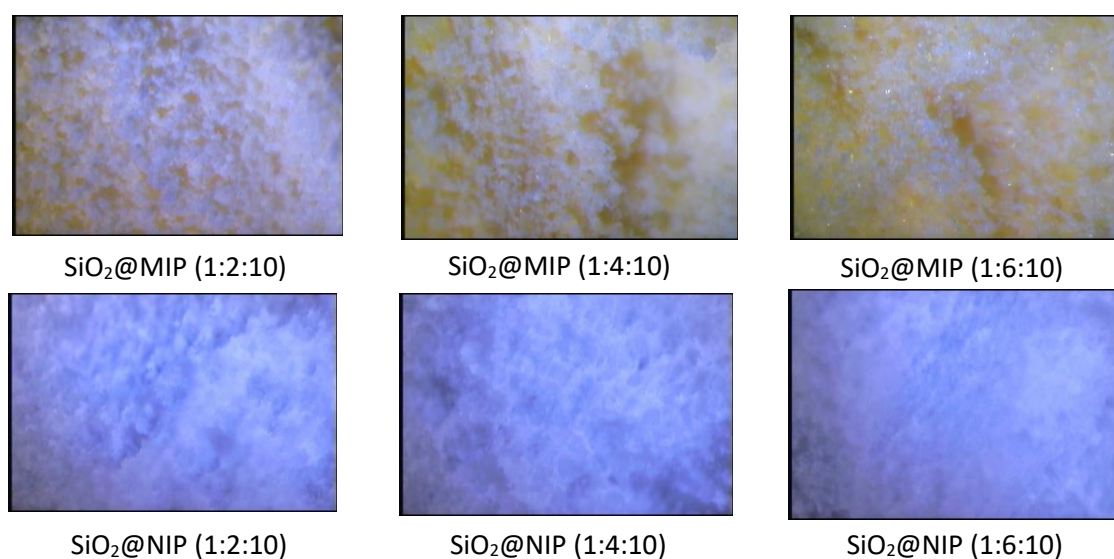
Tabela 7: Diferença de refletância dos materiais tipo core@shell com 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tartrazina

	Materiais			
	SiO ₂ -C=C@MIP		SiO ₂ @MIP	
Quantidade (mg)	300	100	300	100
ΔR (%)	0,40	0,67	2,09	0,85

Fonte: O próprio autor

Conforme os resultados mostrados na Tabela 7, optou-se pelo uso de 300 mg de SiO₂, na síntese dos materiais, pois apresentou menor intensidade de cor que aquele obtido com a SiO₂-C=C e também mostrou maior sensibilidade ao adsorver 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em 2 mL de solução de analito.

Com a finalidade de diminuir ainda mais a coloração amarelada do material obtido, mesmo após a limpeza, foi realizado um estudo para verificar a influência da relação molar entre o analito e o monômero funcional. Os valores das razões (mol/mol) avaliadas foram as seguintes: 1:2:10, 1:4:10 e 1:6:10; tartrazina: acrilamida: *N-N'*-metilenobisacrilamida. Após essas sínteses, os polímeros (já lavados) apresentados na Figura 31, foram obtidos. Os correspondentes espectros de refletância são mostrados na Figura 32.

**Figura 31:** SiO₂@MIPs e SiO₂@NIPs sintetizados variando a relação molar do analito com o monômero funcional

Fonte: O próprio autor

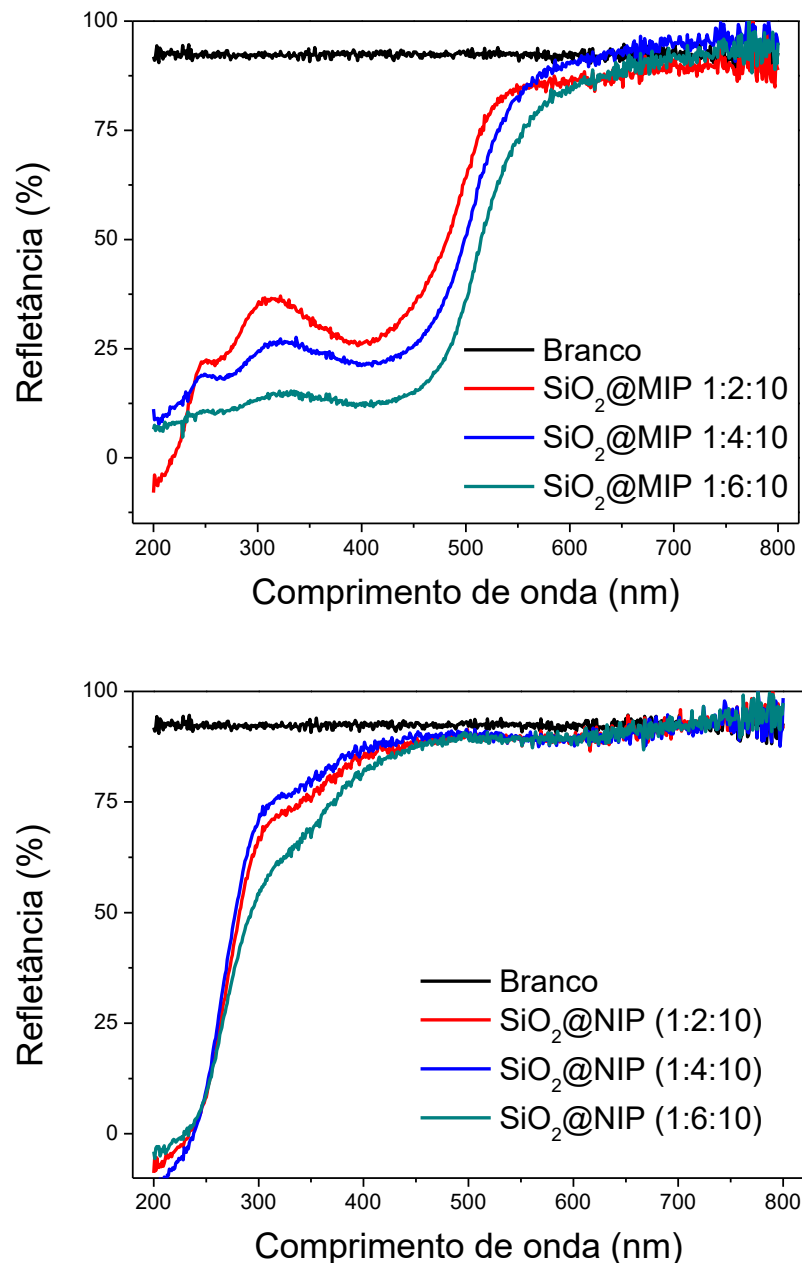


Figura 32: Espectro de refletância dos MIPs e NIPs com suporte de SiO₂ sintetizados pelo método core@shell.

Fonte: O próprio autor

Destas figuras, se pode observar quando maior de a quantidade de monômero funcional (MF), maior é a coloração do material. Isto poderia se dever a maior quantidade de interações entre o analito com o monômero funcional dificultaria a extração do analito na etapa de lavagem do polímero, uma vez que a solução usada na lavagem não conseguiria superar as forças intermoleculares do analito-monômero funcional que ocorrem durante a síntese. Desta forma, ao haver menor quantidade de

interações analito:MF (SiO₂@MIP 1:2:10), a extração do analito na etapa de lavagem do polímero será facilitada, extraindo maior quantidade de analito.

Para verificar se a relação acima mencionada (1:2, analito:MF) ofereceria os melhores resultados foram realizados experimentos de adsorção de 10 µmol L⁻¹ de Tartrazina com todos os materiais sintetizados. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 8, na qual verifica-se que para a relação 1:2:10 usada para sintetizar o material SiO₂@MIP foi obtida a maior variação de sinal (%ΔR).

Desta forma, a partir deste momento a relação 1:2 entre o analito:MF foi usada.

Tabela 8: Porcentagem de adsorção e refletância de 10 µmol L⁻¹ de tartrazina em 2mL de solução dos polímeros

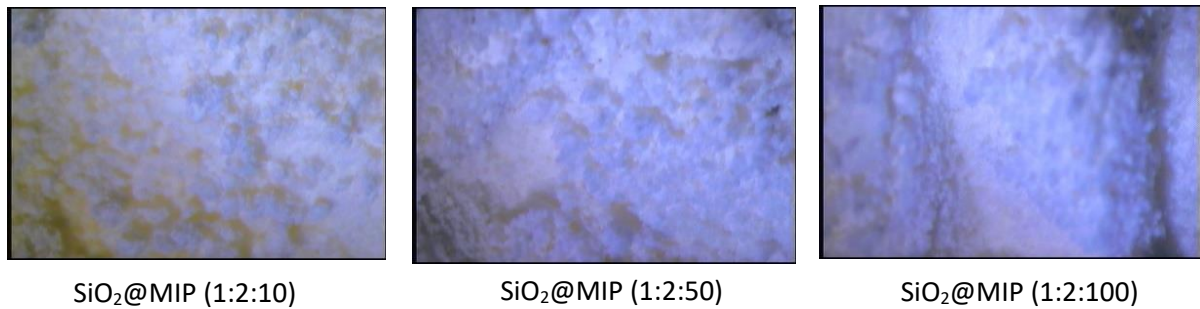
Polímero	%Adsorvido (%)	ΔR (%)
SiO₂@MIP (1:2:10)	93,2	5,4
SiO₂@NIP (1:2:10)	1,8	29,9
SiO ₂ @MIP (1:4:10)	89,4	4,3
SiO ₂ @NIP (1:4:10)	1,0	31,3
SiO ₂ @MIP (1:6:10)	87,0	0,8
SiO ₂ @NIP (1:6:10)	1,5	29,1

Fonte: O próprio autor

Na seguinte etapa, foi avaliada a influência do monômero estrutural no desempenho do material. Para tal, foram estudadas as razões molares 1:2:10, 1:2:50 e 1:2:100, os quais foram sintetizados e lavados para logo realizar as medidas de refletância no Barrelino®.

Nas Figuras 33 e 34, pode-se observar que a coloração depende da quantidade de monômero estrutural (ME), isto é, maior quantidade de ME menor é a coloração do material após a lavagem. Esta característica poderia ser explicada pelo maior revestimento que tem o polímero, uma vez que o complexo analito:MF encontra-se mais “diluído” na estrutura polimérica final. Entretanto, uma quantidade muito grande de ME pode afetar na adsorção do material, tornando-o não seletivo, ou ainda

não adsorvendo eficientemente ao analito, uma vez que o número de cavidades seletivas pode diminuir.



SiO₂@MIP (1:2:10)

SiO₂@MIP (1:2:50)

SiO₂@MIP (1:2:100)

Figura 33: MIPs e NIPs sintetizados variando a relação molar do monômero estrutural.

Fonte: O próprio autor

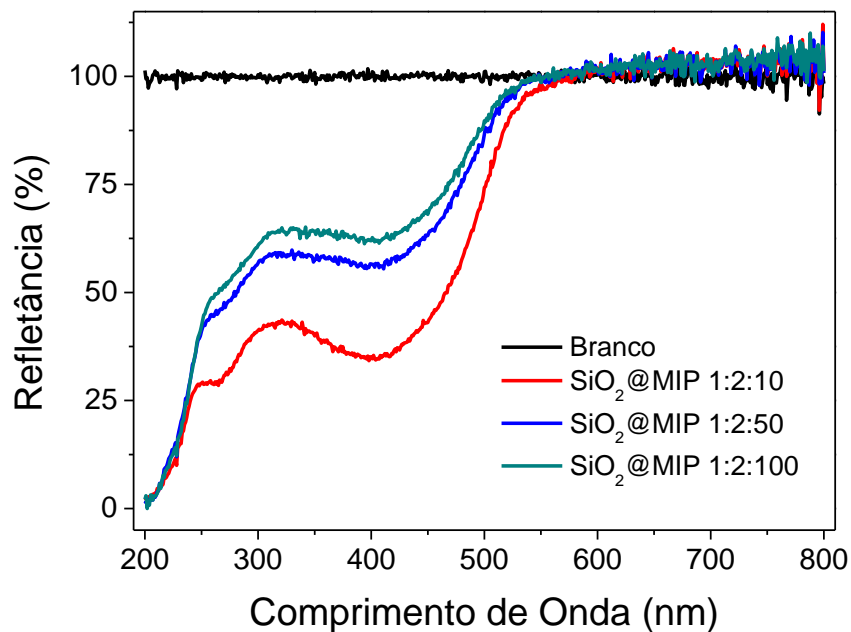


Figura 34: Espectro de refletância dos MIPs com suporte de SiO₂ sintetizados pelo método core@shell.

Fonte: O próprio autor

Para verificar a eficiência dos três materiais na adsorção do analito, foram realizadas medidas de refletância nos sólidos, e os resultados obtidos são mostrados na Tabela 9.

Sendo o SiO₂@MIP com a relação molar 1:2:100, o polímero com melhores resultados, pois teve a maior diferença de refletância e um desvio padrão menor. Sendo este polímero usado para os estudos posteriores.

Tabela 9: Refletância de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tartrazina em 2,0 mL de solução dos polímeros

Polímero	ΔR (%)	RSD (%)
SiO ₂ @MIP (1:2:10)	10,6	1,1
SiO ₂ @MIP (1:2:50)	18,4	1,8
SiO₂@MIP (1:2:100)	23,4	0,4

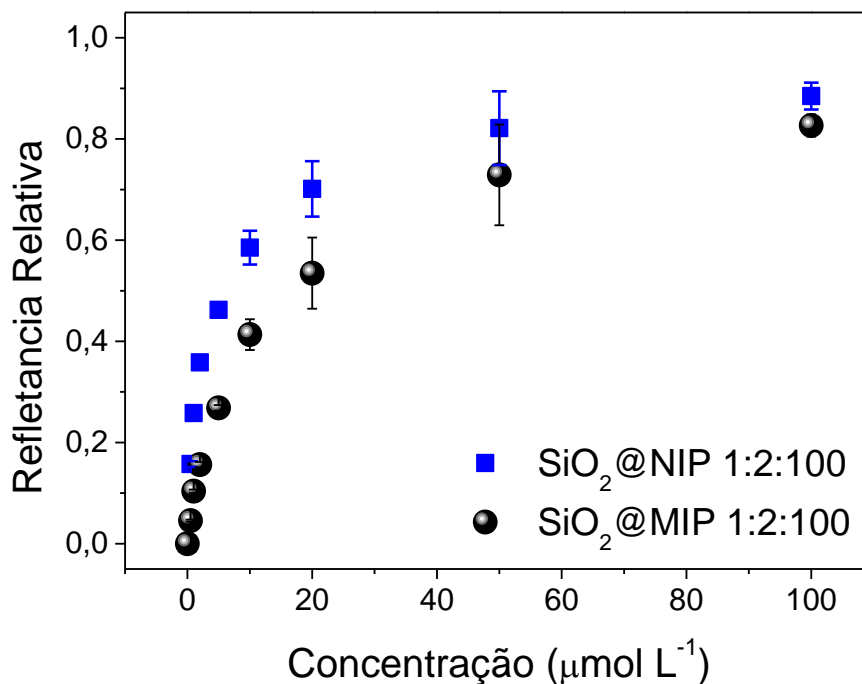
Fonte: O próprio autor

4.3.2.2. Avaliação do perfil de adsorção do material

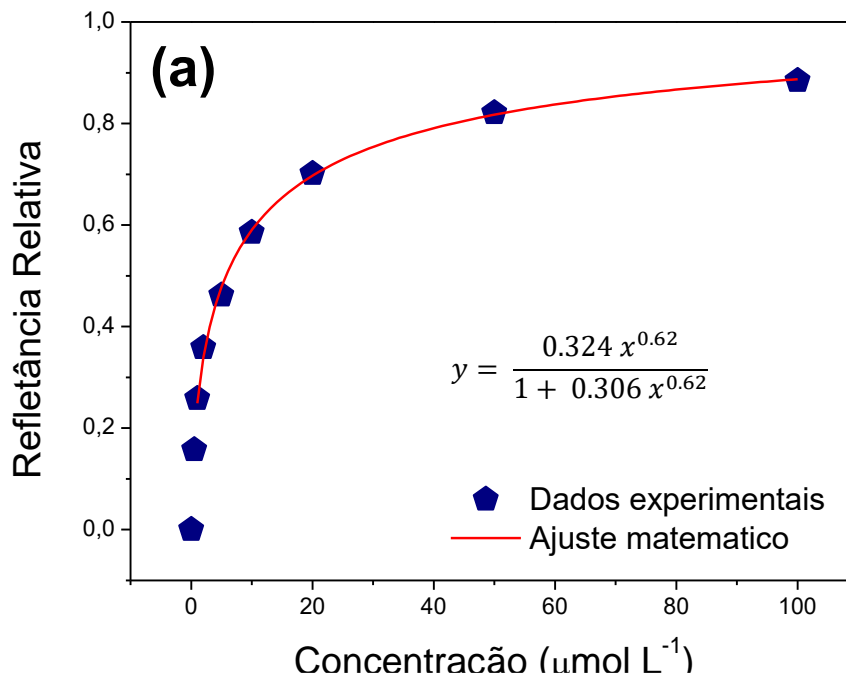
Com todos os parâmetros da síntese já otimizados, deu-se continuidade ao estudo da adsorção dos materiais, SiO₂@MIP 1:2:100 e SiO₂@NIP 1:2:100. Para tal, foi usado o procedimento descrito no item 3.4.2, e variando as concentrações do analito de 0,100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Os resultados deste experimentos, realizados em triplicata, são mostrados na Figura 35, onde são mostrados os valores de refletância relativa (equação 5) em função das concentrações.

$$R_n = \frac{R_i - R_{min}}{R_{máx} - R_{min}} \quad (\text{eq. 5})$$

**Figura 35:** Perfil de refletância relativa dos materiais SiO₂@MIP e SiO₂@NIP otimizados.

Na Figura 35, aparentemente ocorre um melhor desempenho do SiO₂@NIP. Entretanto, acredita-se que isto não seja devido às interações seletivas, e sim podem corresponder a interações não específicas, uma vez que neste caso usou-se maior quantidade de monômero estrutural, *N-N'*-metilenobisacrilamida, pelo que o material terá maior quantidade de grupos vinilos, responsáveis da interação com os corantes como se observou no estudo do MIP obtido pelo método da precipitação. Entretanto, isto não será um problema, desde que o material controle não é seletivo, tal como foi mostrado nos estudos preliminares (Figura 29) e como será apresentado posteriormente. Nas Figuras 36 (a) e (b) mostram-se as isotermas de adsorção obtidas diretamente dos polímeros secos, usando os valores da refletância relativa a 430 nm em função da concentração.



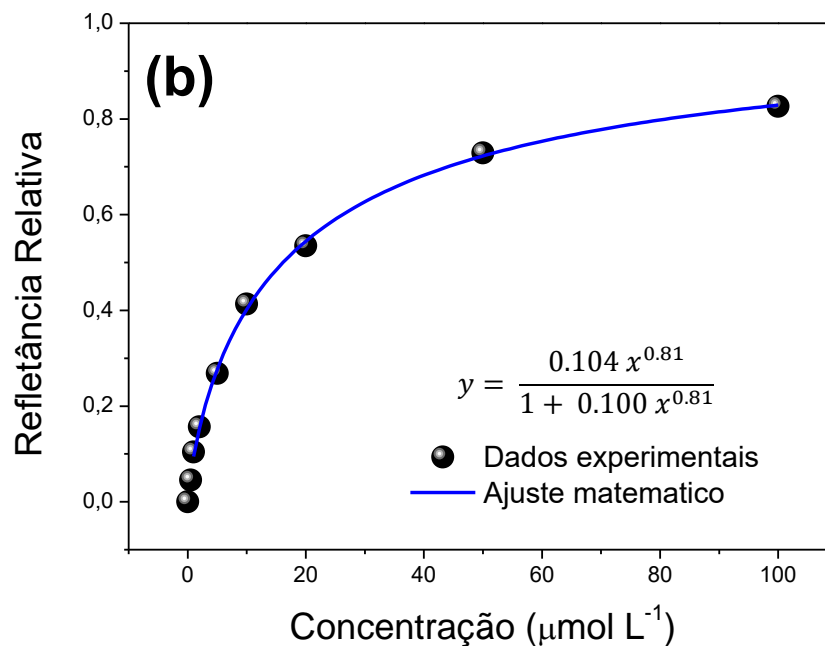


Figura 36: Perfil de isotermas de adsorção da tartrazina no (a) SiO₂@NIP e (b) SiO₂@MIP.

Fonte: O próprio autor

Nos dois casos observa-se que o perfil das isotermas se ajustam matematicamente ao modelo de Langmuir-Freundlich. Pode ser observado também que o índice de heterogeneidade, dado pelo valor da potência no “x” das equações inseridas, são maiores a 0,5 indicando que as superfícies dos materiais obtidos podem ser consideradas homogêneas [33], e que para o MIP (0,81) a homogeneidade foi maior, comparada ao NIP (0,62). E que pode ser explicado pelo tamanho mais homogêneo das cavidades seletivas no MIP.

4.3.2.3. Avaliação da seletividade

Para avaliar a seletividade do material, foram avaliados os interferentes usados durante este trabalho (Tabela 3). A Figura 37, mostra os resultados obtidos usando os polímeros otimizados.

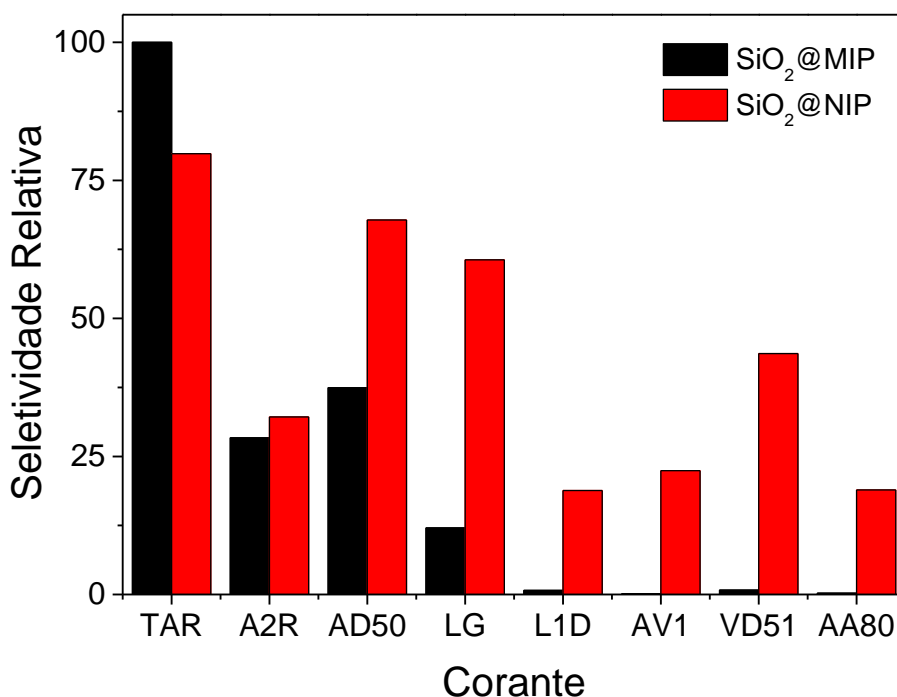


Figura 37: Seletividade do SiO₂@NIP e SiO₂@MIP, registrada pela refletância de sólidos para cada corante avaliado. Tendo a variação da refletância mostrada pelo analito (TAR) como 100% da quantidade retida de analito, e as outras sendo proporcionais segundo cada valor obtido para cada interferente.

Fonte: O próprio autor

A Figura 37 mostra o sucesso da otimização da síntese do polímero híbrido impresso e seletivo a tartrazina (SiO₂@MIP). Onde, claramente observa-se a melhora na seletividade do material, principalmente no corante que apresentou, até então, grande interferência, Amarelo Direto 50 (AD50), o qual ainda é grandemente adsorvido no material não seletivo (SiO₂@NIP). Adicionalmente, a Figura 36, confirma a capacidade do SiO₂@NIP de adsorver indiscriminadamente e facilmente qualquer composto, mostrando claramente a vantagem do MIP em relação ao NIP.

Os resultados aqui apresentados, mostram a síntese de um material inédito na literatura, e que possui amplo e promissor campo de exploração na construção de dispositivos sensores e/ou de análise rápidas.

4.3.2.4. Caracterização dos materiais

Com os polímeros otimizados, estes foram caracterizados morfologicamente, para avaliar as possíveis diferenças entre eles. As Figuras 38 a 40, mostram as imagens obtidas por MEV (Microscopia eletrônica de Varredura) para os materiais: SiO_2 , $\text{SiO}_2@NIP$ e $\text{SiO}_2@MIP$.

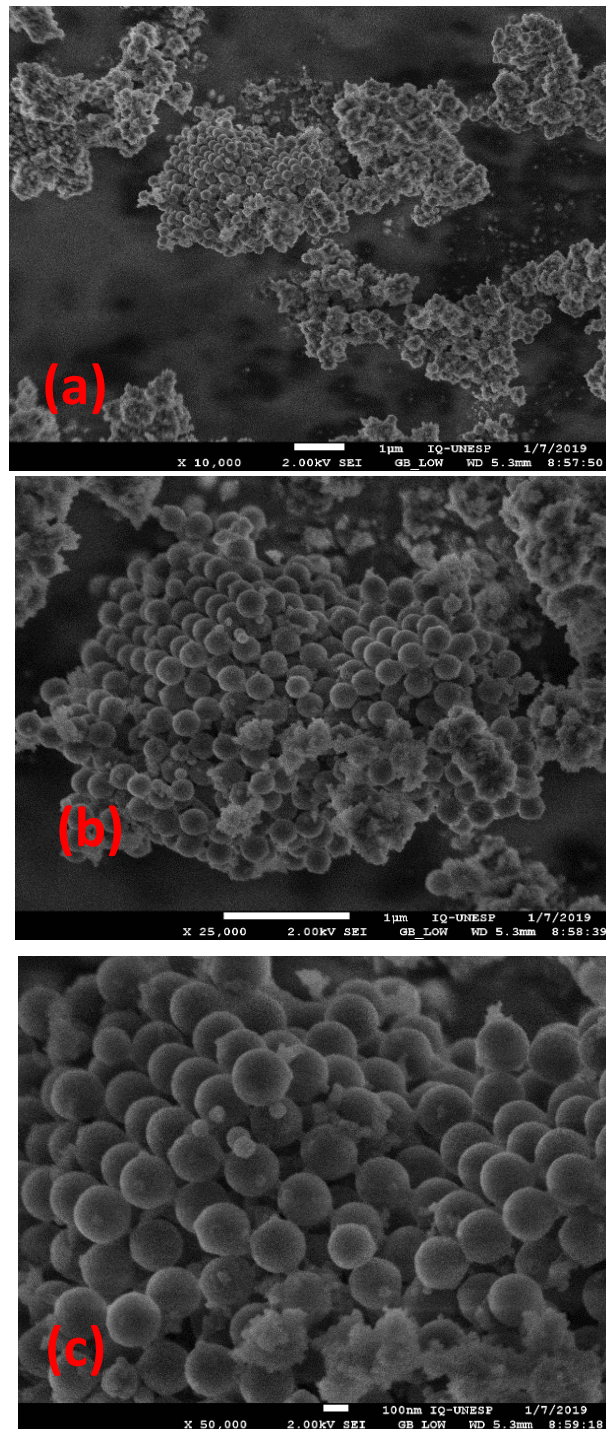


Figura 38: Imagens obtidas com SEM das partículas de SiO_2 em diferentes escalas (a) x1000, (b) x25000 e (c) 50000. Fonte: O próprio autor

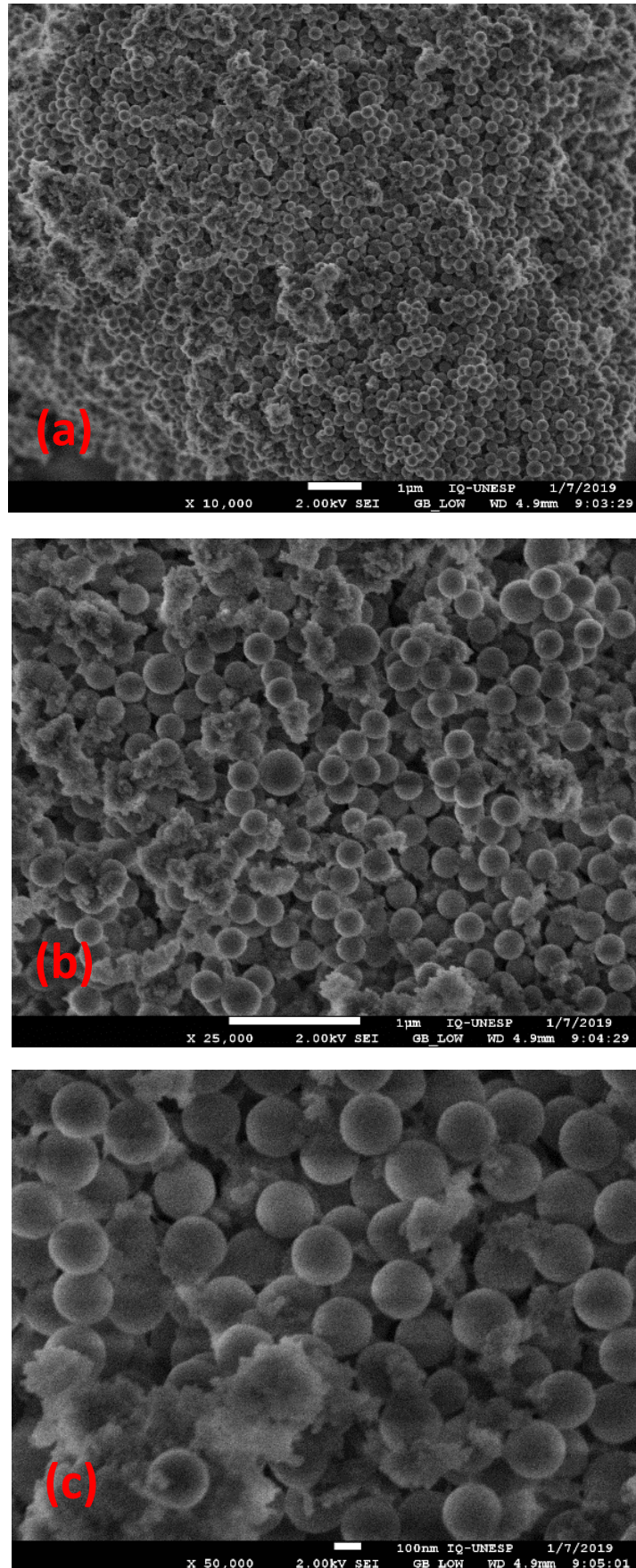


Figura 39: Imagens obtidas com SEM das partículas de SiO₂@NIP em diferentes escalas (a) x1000, (b) x25000 e (c) 50000. Fonte: O próprio autor

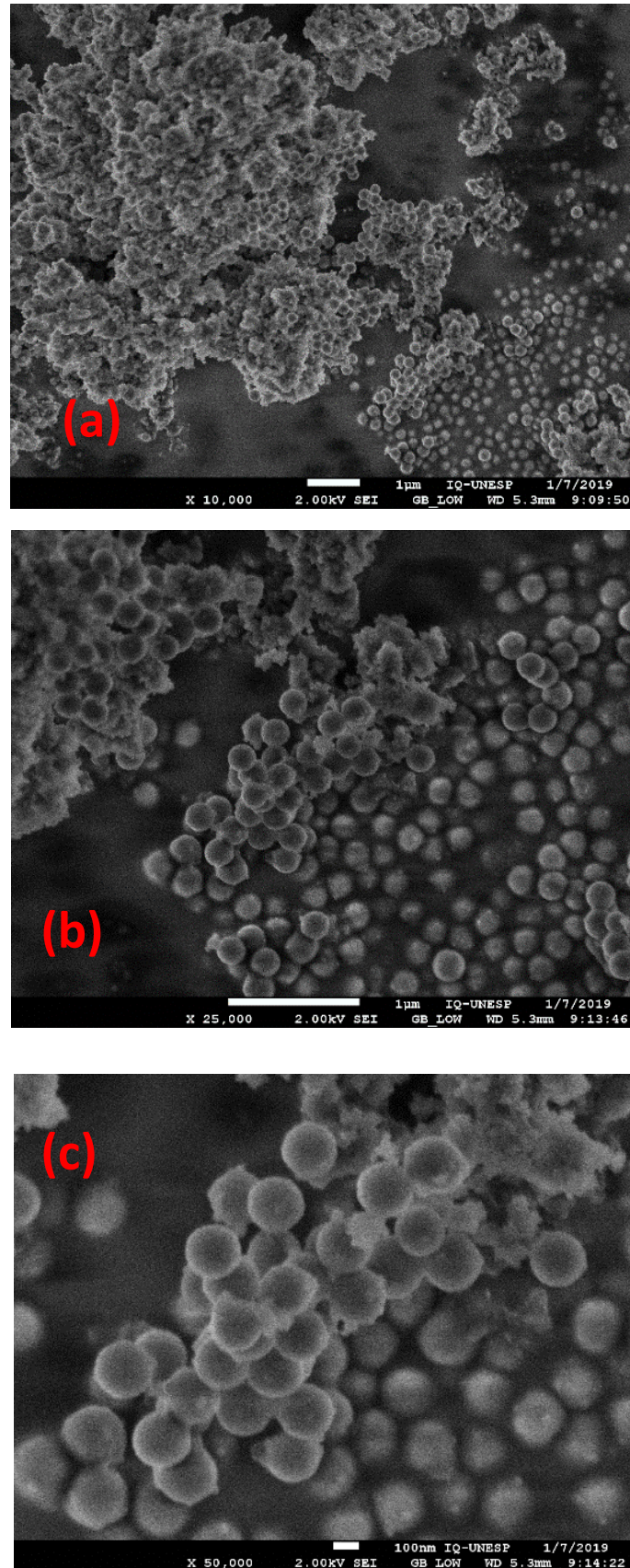


Figura 40: Imagens obtidas com SEM das partículas de SiO₂@MIP em diferentes escalas (a) x1000, (b) x25000 e (c) 50000. Fonte: O próprio autor

Nas Figuras 38, 39 e 40, se observa claramente a forma esférica do SiO₂ e os revestimentos correspondentes do SiO₂@NIP e SiO₂@MIP mantendo a forma esférica do suporte. Pode se observar também que para o MIP há um crescimento mais homogêneo sobre a sílica, e que para o NIP é mais desordenado e heterogêneo.

Também foi possível determinar o tamanho médio das partículas, obtendo-se um valor de 203 nm para o diâmetro de SiO₂, 229 nm e 213 nm para SiO₂@NIP e SiO₂@MIP respectivamente. Destes dados podemos concluir que a impressão molecular teve uma influência no diâmetro do material, pois o SiO₂@NIP ao não ter a Tartrazina durante a polimerização esta foi menos ordenada, resultando em um material heterogêneo e com um maior diâmetro, que do SiO₂@MIP.

Os materiais também foram avaliados pela Espectroscopia Raman, que permitiu avaliar as diversas ligações presentes nos mesmos.

Os espectros Raman foram coletados utilizando um equipamento Raman dispersivo 400F da Perkin Elmer® equipado com um detector CCD refrigerado a -50 °C. Foram utilizados um laser de diodo com comprimento de onda de 785 nm e 250 mW de potência máxima na fonte. As amostras foram expostas ao laser por 10 segundos em um total de 10 acumulações, a janela espectral foi de 200 a 2600 cm⁻¹ com uma resolução de 2 cm⁻¹.

Na Figura 41, observa-se na faixa entre 500 e 900 cm⁻¹, os picos característicos de SiO₂ [34], além disso, a intensidade dos picos diminui, respectivamente para o MIP e o NIP, e que pode estar relacionado com a espessura do polímero, corroborando os dados apresentados pelo MEV. Uma vez que a intensidade do sinal Raman é dependente de quanto o SiO₂ está longe da superfície, diminuindo com isto a intensidade dos picos. Assim mesmo, observa-se que os picos na faixa entre 1200 e 1750 cm⁻¹ são característicos dos monômeros funcionais e estruturais (acrilamida, N-N metilenobisacrilamida) [35, 36], e que estes picos somente foram observados para os materiais contendo o MIP e NIP, não no suporte de SiO₂, e que foram praticamente iguais, mostrando apenas uma pequena diferença em torno a 840 cm⁻¹, e que pode ser devido as pouca moléculas de Tartrazina remanescentes -mesmo logo após a lavagem do material, e que lhe confere a refletância de fundo mostrada na Figura 34. Cabe ressaltar que este detalhe não poderia ser observado em medidas de FTIR, uma vez que transições RAMAN são muito mais sensíveis. Entretanto, maiores diferenças não são observadas entre os materiais com MIP e NIP, indicando que as polimerizações, na superfície do SiO₂ foram realizadas com sucesso.

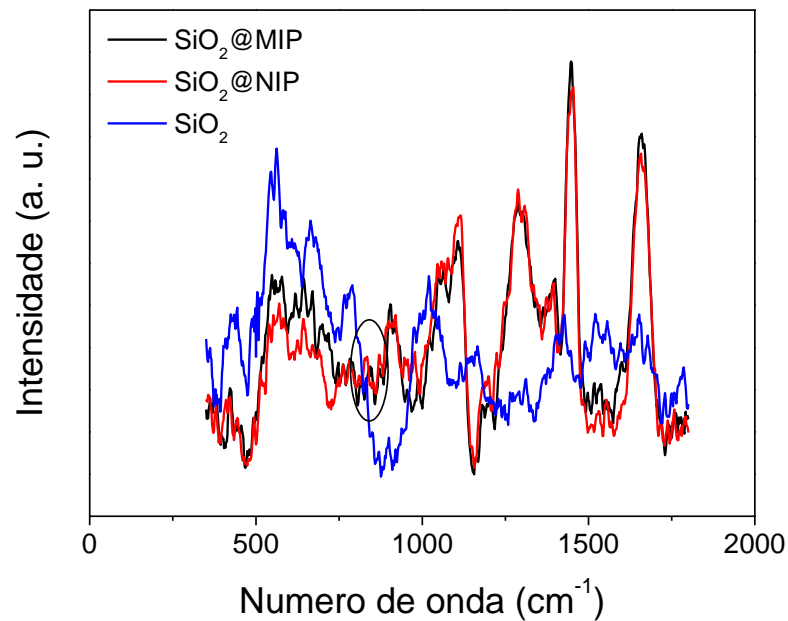


Figura 41: Espectros Raman do suporte SiO₂, SiO₂@NIP e SiO₂@MIP.

Fonte: O próprio autor

4.3.2.5. Aplicação do SiO₂@MIP na análise de amostras de refrigerante

Para verificar a eficiência do material para aplicação em amostras reais usando medidas de refletância em sólidos, foi construída uma curva analítica, mostrada na Figura 42, em uma faixa de trabalho entre 1,00 e 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tartrazina. Os dados se ajustaram linearmente com um coeficiente de correlação igual a 0,9889, e foi usada para a análise de amostras dos refrigerantes, avaliados nos estudos anteriores. Para a análise das amostras, estas foram submetidas 10 minutos de ultrassom para gaseificação.

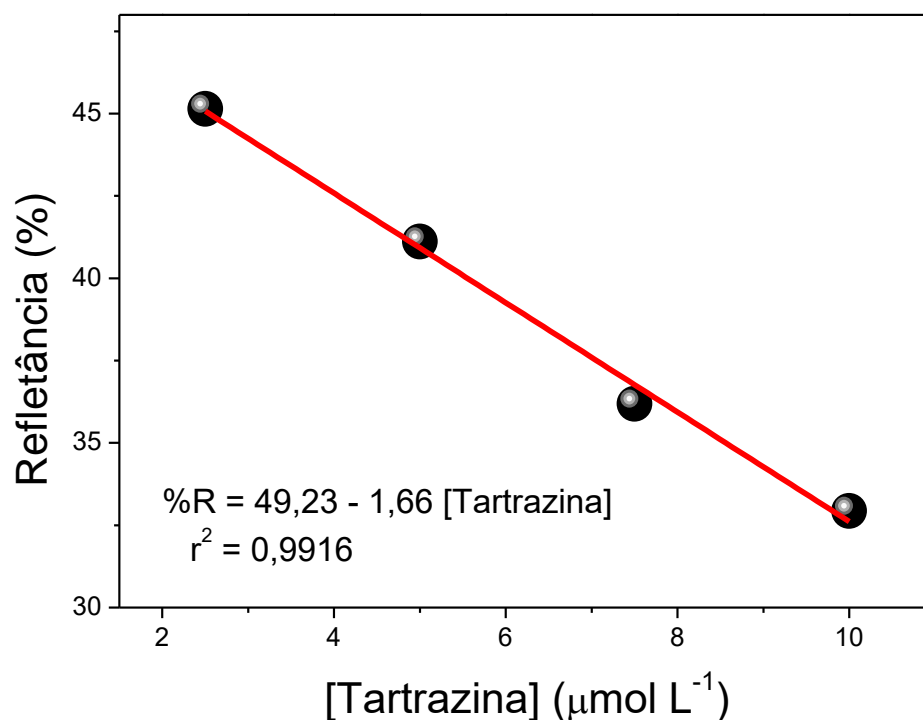


Figura 42: Curva analítica de Concentração de Tartrazina vs %Refletância.

Fonte: O próprio autor

Tabela 10: Teores de Tartrazina encontrados usando os métodos apresentado neste trabalho

Amostras	Método Referencia por HPLC	<u>MIP convencional</u> Método refletância direta em sólidos	<u>SiO₂-C=C@MIP</u> Método UV-vis no sobrenadante	<u>SiO₂@MIP</u> Método refletância direta em sólidos
	[Tartrazina] ($\mu\text{mol L}^{-1}$)			
Refrigerante I	2,89 ± 0,04	20 ± 9	2,3 ± 0,6	3,3 ± 0,4
Refrigerante II	3,5 ± 0,4	3 ± 1	73 ± 8	2,7 ± 0,7
Refrigerante III	3,9 ± 0,5	5 ± 1	76 ± 6	3,2 ± 0,5

Fonte: O próprio autor

Na Tabela 10, comparou-se os dados obtidos com os diferentes materiais estudados, onde evidencia-se a evolução satisfatória do material sintetizado, e que ao melhorar a seletividade, proporcionou menor interferência, permitindo discriminar de forma adequada os interferentes que estavam presentes nas amostras, e que não tinha sido possível com os outros materiais e métodos avaliados anteriormente, além disso, o método de refletância usando SiO₂@MIP é comparável ao método de referencia (HPLC); pois ao fazer um teste *t-student*, a hipótese nula foi aceita ($t_{\text{calculado}} < t_{\text{teórico}}$), sendo possível o uso do método direto de refletância de sólidos em

polímeros impressos, que além de ser simples e direto, é inédito na literatura, mostrando a relevância deste trabalho e sua contribuição para a área de pesquisa.

4.4. Estudos relacionados à síntese do MIP sobre fibras ópticas visando construção de optodos (sensores químicos à base de fibras ópticas)

Finalmente, visando a construção de dispositivos sensores tomando como base os materiais sintetizados à base de sílica funcionalizada e não funcionalizada, e fibras ópticas de vidro, para a construção de sensores químicos. Foram realizados alguns experimentos exploratórios para a síntese de MIP e NIP, sobre fibras ópticas de vidro silanizadas (Figura 43). Embora os resultados com sílica-silanizada, não tenham sido satisfatórios neste trabalho, o grupo de pesquisa já realizou alguns trabalhos promissores com fibras silanizadas, e para fins comparativos, inicialmente foi usado esse suporte.

Para realizar isto, o *tip*-sensor foi colocado em soluções de tartrazina em pH 3 por 20 min para cada concentração, e a seguir, após lavagem da fibra óptica para remoção das moléculas não adsorvidas, foi realizada a medida da refletância a 430 nm em água.

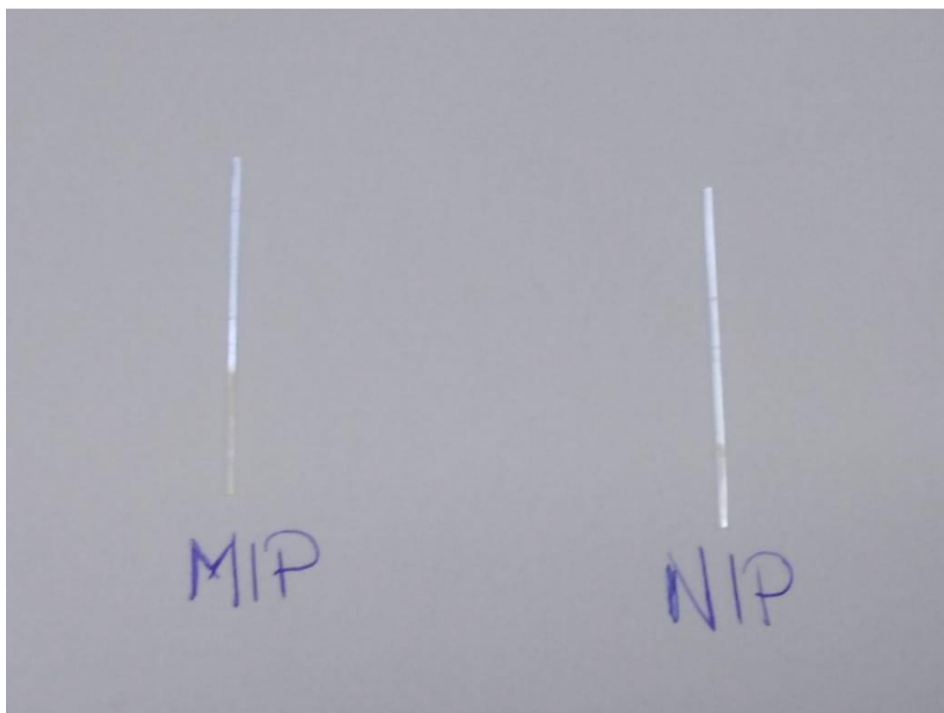


Figura 43: MIP de tartrazina (esquerda) e NIP (direita) diretamente em fibra de vidro, após lavagem

Fonte: O próprio autor

Com os espectros de refletância obtidos foi construída a curva analítica mostrada na Figura 44, plotando a refletância normalizada (R_n) vs [Tartrazina]. Usou-se a refletância normalizada (equação 6), pois este valor uniformiza os sinais entre diversos optodos [37].

$$R_n = \frac{R_i - R_{min}}{R_{máx} - R_{min}} \quad (\text{eq. 6})$$

Onde R_{MAX} é a refletância máxima obtida de um conjunto de medidas; R_{min} é a refletância mínima da menor concentração e $R_{i-éssima}$ é a refletância correspondente a quaisquer valor de concentração intermediário. Desta forma, os valores da R_n variam entre 0 e 1.

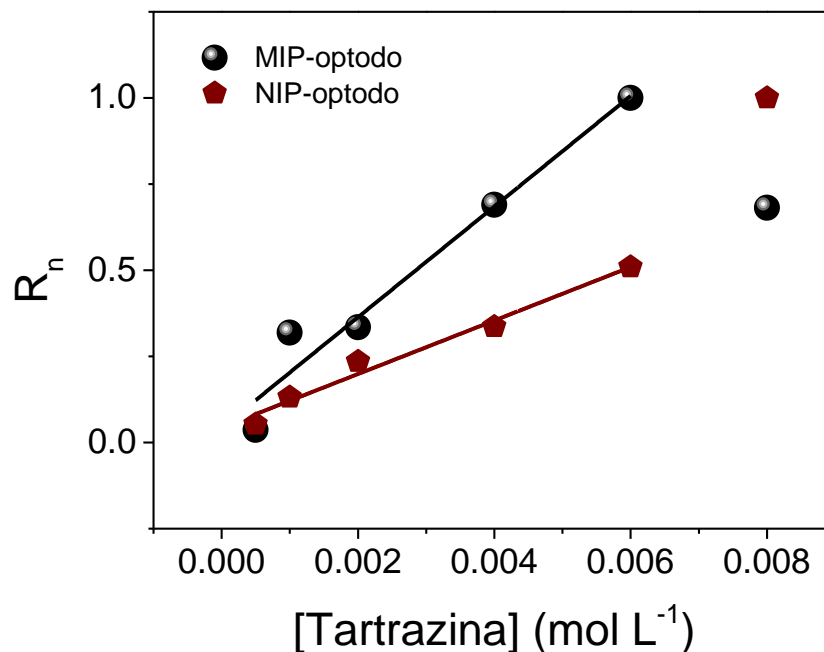


Figura 44: Refletância normalizada obtida para os sensores preparados com MIP e NIP sobre fibra, em função de diferentes concentrações de tartrazina.

Fonte: O próprio autor

Pode-se observar que o MIP-optodo apresenta maior sensibilidade que o NIP-optodo, e que, neste estágio, ambos sensores possuem uma faixa linear de resposta até 6 mmol L⁻¹, as quais foram ajustadas pelas seguintes equações (7 e 8):

$$R_n = 0,04 + 160[\textit{Tartrazina}] \quad (\text{eq. 7})$$
$$r = 0,9803$$

$$R_n = 0,04 + 77,6[\textit{Tartrazina}] \quad (\text{eq. 8})$$
$$r = 0,9899$$

Demonstrando com estes estudos preliminares a potencialidade do sensor construído e nas etapas subsequentes serão realizados estudos para avaliar a síntese de MIP e NIP diretamente nas fibras ópticas sem silanizar, comparando os resultados obtidos.

5. CONCLUSÕES

A pesar da literatura mostrar polímeros com impressão molecular para tartrazina [30, 38-39], quando sintetizados através de procedimentos já descritos através método “convencional” os polímeros obtidos não apresentaram resultados satisfatórios, uma vez que o polímero impresso manteve uma coloração amarelada. Pensando numa estratégia para contornar esse problema, foram sintetizados materiais do tipo *core@shell* que apresentaram melhor eficiência na adsorção do corante Tartrazina, porém, dentre eles, o polímero com suporte de partículas SiO₂ sem funcionalizar mostrou o melhor desempenho em relação à sensibilidade e seletividade, assim como também uma intensidade de cor muito menor que a do polímero com suporte e SiO₂-C=C.

O polímero com melhor desempenho, ao ser aplicado como material seletivo na extração do analito em amostras, apresentou resultados comparáveis com o método de referência (Tabela 10), demonstrando que o método de síntese do polímero SiO₂@MIP foi bem sucedido, sendo inédito na literatura. Mostrando um novo material que pode ser usado para adsorção seletiva de Tartrazina com medida direta da refletância do sólido como método de quantificação, que é mais adequado para este tipo de material.

Finalmente, foram realizados estudos exploratórios visando o uso desses polímeros impressos como fase de reconhecimento em sensores ópticos, encontrando-se resultados promissores, que deverão ser aprofundados em estudos posteriores.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como estudos que podem ser realizados em etapas futuras, têm-se a modificação das fibras ópticas sem funcionalizar; a comparação de ambos optodos (com aquele da fibra funcionalizada); e para o sensor mais promissor deverão ser realizadas as otimizações na construção e medidas; para finalmente aplicar o sensor em diversos tipos de amostras.

REFERÊNCIAS

- [1] ASHKENAZI P, YARNITZKY C, CAIS M. Determination of synthetic food colours by means of a novel sample preparation system. **Analytica Chimica Acta** 248 (1991); 289-299
- [2] SILVA SLM, GARCIA QBS, LIMA CFLJ, BARRADO E. Voltammetric determination of food colorants using a polyallylamine modified tubular electrode in a multicommutated flow system. **Talanta** 72 (2007); 282-288.
- [3] HE Y., GAO J., FENG F., LIU C., PENG Y., WANG S. The comparative study on the rapid decolorization of azo, anthraquinone and triphenylmethane dyes by zerovalent iron. **Chemical Engineering Journal**, v. 179 (2012); 8-18.
- [4] YANG X, ZHAO X., LIU Y., ZHENG Y., QIAN S. Decolorization of azo, triphenylmethane and anthraquinone dyes by a newly isolated *Trametes* sp. SQ01 and its laccase. **Process Biochemistry**, v. 44 (2009); 1185-1189.
- [5] SILVA G. H., SILVA G. L., ABREU C. A. M., SILVA V. L., MOTTA M. *II-245* - Estudo da cinética de adsorção de um corante de efluente de indústria têxtil por argilas esmectitas da região do Araripe - PE, **23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**.
- [6] LOPEZ-DE-ALBA P, RODRIGUEZ L, CERDÁ V. Simultaneous determination of tartrazine, sunset yellow and allura red in comercial soft drinks by multivariate spectral analysis. **Quimica Analítica** 20 (2001); 63-72
- [7] NEVADO J, CABANILLAS C, SALCEDO A. Method development and validation for the simultaneous determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis. **Analytica Chimica Acta** 378 (1999); 63-71.
- [8] ROWE KS, ROWE KJ. Synthetic food coloring and behavior: a dose response effect in a double-blind, placebo-controlled, repeated-measures study. **Journal of Pediatrics** 125 (1994); 691-698.
- [9] STEVENSON DD, SIMON RA, LUMRY WR, MATHISON DA. Adverse reactions to tartrazine. **Journal of Allergy Clinical Immunology** 78 (1986); 182-191
- [10] XIAYOU Z, YINGZI L, JUANJUAN Z, JIN Z, LIANG Z, JUANKUN Z, Rapid and sensitive determination of tartrazine using a molecularly imprinted copolymer modified carbon electrode (MIP-PmDB/PoPD-GCE) **Journal of Electroanalytical Chemistry** 785 (2017); 90–95.
- [11] TANAKA T. Reproductive and neurobehavioural toxicity study of tartrazina administered to mice in the diet. **Food and Chemical Toxicology** 44 (2006); 179-187.

- [12] MEYER S, PROBERT P, LAKEY A et al. Hepatic effects of tartrazina (E 102) after systemic exposure are independent of oestrogen receptor interactions in the mouse. **Toxicology Letter** 273 (2017); 55-58.
- [13] SAHRAEI R, FARMANY A., MORTAZAVI R. A nanosilver-based spectrophotometry method for sensitive determination of tartrazine in food samples. **Food Chemistry** 138 (2013); 1239-1242.
- [14] VIDOTTI E, ROLLEMBERG M. Espectrofotometria Derivativa: Uma estratégia simples para a determinação simultânea de corantes em alimentos. **Química Nova**, Vol. 29 No 2 (2006), 230-233.
- [15] COELHO TM, VIDOTTI EC, ROLLEMBERG MC, MEDINA AN, BAESSO ML, CELLA N, BENTO AC. Photoacoustic spectroscopy as a tool for determination of food dyes: comparison with first derivative spectrophotometry. **Talanta** 81 (2010); 202-207.
- [16] YOSHIOKA N, ICHIBAHASHI K. Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. **Talanta** 74 (2008); 1408-1413.
- [17] LEE K, SHIDDIKY M, PARK S, PARK D, SHIM Y. Electrophoretic analysis of food dyes using a miniaturized microfluidic system. **Electrophoresis** 28 (2008); 1910-1917.
- [18] GHASEM K, ZEYNAB K., MARYAM Z, PARISA S, MAHDIEH A.; Voltammetric sensor for tatrazine determination in soft drinks using poly(*p*-aminobenzenesulfonic acid)/zinc oxide nanoparticles in carbon paste electrode. **Journal of Food and Drug Analysis** 25 (2017); 293-301.
- [19] RUIZ-CÓRDOVA G, Khan S, GONÇALVES L, PIVIDORI M, PICASSO G, SOTOMAYOR M. Electrochemical sensing using magnetic molecularly imprinted polymer particles previously captured by a magneto-sensor. **Talanta** 181 (2018); 19-23.
- [20] FOGUEL M., et al. A molecularly imprinted polymer-based evanescent wave fiber optic sensor for the detection of basic red 9 dye, **Sensors and Actuators B**. Vol. 218 (2015); 222-228.
- [21] HAUPT K, LINARES A, BOMPART M, SUM B. Molecularly imprinted polymers. **Top Curr Chem** (2011) 325; 1-28.
- [22] CORMACK P, ELORZA A. Molecularly Imprinted polymers: synthesis and characterization. **Journal of Chromatography** 804 (2004); 173-182.
- [23] PRASAD B, SINGH K. Molecularly imprinted polymer-based core-shell (solid vs hollow) @ pencil graphite electrode for electrochemical sensing of certain anti-HIV drugs. **Sensors and Actuators B** 224 (2017); 167-174.

- [24] URBAN M.W. Attenuated Total Reflection Spectroscopy of Polymers. **American Chemical Society** (1996); 33-43.
- [25] FRINGELI U.P., BAURECHT D., GUNTARD H.H. Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials. **Dekker** (2000); 143-148.
- [26] KOICHUMANOVA K, VISAN A, GEERDINK B, LAMMERTINK R, MOJET B, SESHAN K, LEFFERTS L. ATR-IR spectroscopic cell for *in-situ* studies at solid-liquid interface at elevated temperatures and pressures. **Catalysis Today** (2016); 1-10.
- [27] BURGI T, BAIKER A. Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy of Solid Catalysts Functioning in the Presence of Liquid-Phase Reactants. **Advance Catalysis** 50 (2006); 227-283.
- [28] HULANICKI A., GLAB S., INGMAN F. Chemical sensors definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, p.1247-1250, 1991.
- [29] 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.
- [30] 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 (2013); 2452-2460.
- [31] LI R., JIANG Z., LIU Y., Direct solid-phase Spectrophotometric Determination of Tartrazine in Soft Drinks Using β -Cyclodextrin Polymer as Support. **Journal of Food and Drug Analysis**, Vol 16, No 5 (2008); 91-96.
- [32] GILAPVAS E, DOBROSZ-GOMEZ I, GÓMEZ-GARCIA M. Degradación y Mineralización de Tartrazina mediante Electrooxidación. Optimización de las Condiciones de Operación. **Información Tecnológica** Vol. 25 (2014); 163-174.
- [33] GAUTHAM P. J., PRABHAKAR C., A modified Langmuir-Freundlich isotherm model for simulating pH-dependent adsorption effects. **Journal of Contaminant Hydrology** 129-130 (2012); 46-53.
- [34] BOROWICZ P., TAUBE A., RZODKIEWICZ W., LATEK M., GIERALTOWSKA S. Raman Spectra of High- κ Dielectric Layers Investigated with Micro-Raman Spectroscopy Comparison with Silicon Dioxide. **The Scientific World Journal** (2013); 1-6.
- [35] BALDOCK C., RINTOUL L., KEEVIL S., POPE M., GEORGE G. Fourier transform Raman spectroscopy of polyacrylamide gels (PAGs) for radiation dosimetry. **Physical Medical Biology** 43 (1998); 3617-3627.

[36] JONATHAN N., The Infrared and Raman Spectra and Structure of Acrylamide, **Journal of Molecular Spectroscopy** 6 (1961); 205-214.

[37] SOTOMAYOR P., RAIMUNDO I., OLIVEIRA G., OLIVEIRA W., Evaluation of fiber optical chemical sensor for flow analysis systems. **Sensors and Actuators B** 51 (1998); 382-390.

[38] ZHAO X., LIU Y., ZUO J., ZHANG J., ZHU L., ZHANG J. Rapid and sensitive determination of tartrazine using a molecularly imprinted copolymer modified carbon electrode (MIP-PmDB/PoPD-GCE). **Journal of Electroanalytical Chemistry** 785 (2017); 90-95.

[39] SHIRALIPOUR R., LARKI A., Pre-concentration and determination of tartrazine dye from aqueous solutions using modified cellulose nanosponges. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 135 (2017); 123-129.