

KAMILLA DA MATA

**Preparo e aplicação de poliacrilamida
molecularmente impressa como adsorvente de
glifosato e AMPA.**

São José do Rio Preto, 28 de Fevereiro de 2014

KAMILLA DA MATA

**Preparo e aplicação de poliacrilamida molecularmente impressa
como adsorvente de glifosato e AMPA.**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Química, área de Química Ambiental junto ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof^o Dr^o. Altair Benedito Moreira

Co-orientador: Prof^o Dr^o. César Ricardo Teixeira Tarley

São José do Rio Preto, 28 de Fevereiro de 2014

Mata, Kamilla da.

Preparo e aplicação de poliacrilamida molecularmente impressa como adsorvente de glifosato e AMPA / Kamilla da Mata. – São José do Rio Preto, 2014.

111 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Altair Benedito Moreira

Coorientador: César Ricardo Teixeira Tarley

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas.

1. Química ambiental. 2. Toxicologia ambiental. 3. Glifosato – Aspectos ambientais. 4. Impressão molecular. 5. Adsorção. I. Moreira, Altair Benedito. II. Tarley, César Ricardo Teixeira. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU — 54:577.4

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

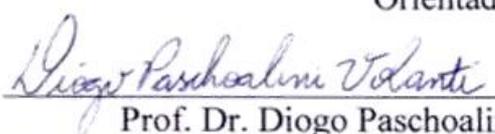
KAMILLA DA MATA

**Preparo e aplicação de poliacrilamida molecularmente impressa como
adsorvente de glifosato e AMPA.**

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Altair Benedito Moreira
UNESP – São José do Rio Preto/SP
Orientador



Prof. Dr. Diogo Paschoaline
UNESP – São José do Rio Preto/SP
Professor Assistente Efetivo



Prof. Dr.ª Ana Cristi Basile Dias
Unb – Brasília/DF
Professor Adjunto I

São José do Rio Preto, 28 de Fevereiro de 2014

Dedicatória

*Aos meus pais, Juarez e Nilce, aos meus irmãos Diego e Rafael,
e ao meu marido Evandro pelo incentivo constante e pelo amor
incondicional!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo, pois Dele veio a força para que eu superasse todas as dificuldades.

E em especial, aos meus queridos pais, Juarez e Nilce, que estiveram sempre ao meu lado me apoiando nesta fase e em toda minha vida, me educando e ensinando ser uma pessoa cada dia melhor. Sem vocês ao meu lado eu nada seria. Amo muito vocês!!!!

Aos meus irmãos Diego e Rafael por todo o apoio e suporte oferecido quando mais precisei, e por estar presente em todos os momentos da minha vida. E as minhas cunhadas Paula e Josiele, muito obrigada por tudo!

Ao meu marido, Evandro Matias, um amigo e um companheiro que muito contribuiu no incentivo e apoio nos momentos de estudo, dedicação e dificuldades. Amo muito você!

A toda minha família, em especial a minha querida avó Iraci, vocês são muito importantes na minha vida!

A minha sogra Ercília, ao meu sogro Evaldo, e aos meus cunhados Ernandes e Jucimara, por toda a atenção e apoio durante minha caminhada!

Ao Profº Drº Altair Benedito Moreira pelo enorme apoio, incentivo e dedicação ao meu trabalho pela brilhante orientação, paciência, confiança e amizade e por todas as oportunidades que tem me proporcionado.

Ao Profº Drº César Ricardo Teixeira Tarley pela co-orientação, o acolhimento em seu laboratório, e a sua dedicação ao desenvolvimento deste trabalho.

À Profª. Drª. Márcia Cristina Bisinoti, pelo incentivo, oportunidades proporcionadas e pela ajuda na realização deste trabalho.

A CAPES pela bolsa concedida.

A FAPESP pelo apoio financeiro.

Aos meus colegas de laboratório: Amanda, André, Augusto, Bruna, Flávia, Gláucia, Henrique, Hortênsia, Isabela, Jéssica, João, Júlia, Laís, Nathália, Nayrê, Renata e Vinícius. Em especial a Ana Lúcia, pela amizade, pois sempre estivemos unidas desde os momentos iniciais do programa de Mestrado. E a todos que por lá passaram obrigado pela companhia e momentos de descontração, o que tornou a rotina de trabalho mais agradável.

Ao grupo de pesquisa do laboratório 339 na Universidade Estadual de Londrina, principalmente a Marcela Corazza e a Fernanda Midori, por todo apoio, suporte, ensinamento, acolhimento e dedicação em todo desenvolvimento do meu trabalho.

Ao laboratório ThoMson do Prof.º Drº Marcos Eberlin, por abrir suas portas e acolher a aluna Ana Lúcia e a mim em um estágio de curta duração, e principalmente ao doutorando Elias Tessaro e a pós doutoranda Rose.

Ao Guilherme do laboratório de Biogeoquímica Ambiental pelo ensinamento.

Aos funcionários do DQCA Rita Beatriz, Glaucia, Claudinei, Daniela e Eliani pela prestatividade e auxílio durante a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ainda
ninguém pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

Arthur Schopenhauer

RESUMO

O glifosato (N-(fosfometil)glicina) é um herbicida (molécula organofosforada de origem sintética) não seletivo, pós-emergente, tendo como principal produto de degradação o ácido aminometilfosfônico (AMPA). Este herbicida tem sido amplamente empregado na agricultura para o controle de ervas daninhas anuais e perenes. Para a determinação de glifosato e AMPA no ambiente normalmente emprega-se métodos espectroscópicos, eletroquímicos, eletroforese capilar e principalmente os cromatográficos. Em amostras ambientais as matrizes são bastante complexas e as concentrações desses compostos são muito baixas, portanto é comum a necessidade do uso de materiais para pré-concentrar os analitos de interesse. Neste trabalho foi preparada e aplicada a poliacrilamida molecularmente impressa como um material alternativo adsorvente para glifosato e AMPA. Os MIPs foram preparados através da técnica de impressão molecular em um processo em “bulk”, utilizando-se acrilamida (AAm) como monômero funcional, etileno glicoldimetacrilato (EGDMA) como reagente de ligação cruzada e o 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila (AIBN) como iniciador radicalar. A fim de avaliar a seletividade dos materiais, foram preparados, paralelamente, polímeros sem impressão molecular (NIP - *Non Imprinted Polymer*) para cada polímero sintetizado com ausência da molécula molde. A caracterização dos polímeros foi realizada empregando as técnicas de termogravimetria (TG), infravermelho (FT-IR), análise elementar e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para os estudos de isoterma de adsorção o modelo que melhor descreveu o equilíbrio para ambos os analitos foi o não linear de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção, sendo que as capacidades máximas de adsorção foram consideradas $3,0 \text{ mg g}^{-1}$ e $4,7 \text{ mg g}^{-1}$ para o MIP-GF e MIP-AMPA, respectivamente. Nos estudos cinéticos os dados experimentais de ambos os polímeros melhor se ajustaram ao modelo de pseudo-segunda ordem. Analisando as condições de adsorção competitiva dos polímeros impressos foi determinado que estes são 2,2 e 2,4 vezes mais seletivo para o MIP-GF e MIP-AMPA, respectivamente, em comparação com os NIPs.

Palavras-chave: glifosato e AMPA, MIP, NIP.

ABSTRACT

Glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine) is an herbicide (synthetic organophosphate molecule origin) non-selective, post-emergent, with the main degradation product of the aminomethylphosphonic acid (AMPA). This herbicide has been widely used in agriculture to control annual and perennial weeds. For the determination of glyphosate and AMPA in the environment normally is employed spectroscopic, electrochemical, particularly capillary electrophoresis and chromatographic methods. The environmental samples matrices are quite complex and the concentrations of these compounds are very low, so it is common to need to use materials to pre-concentrate the analytes of interest. This work was prepared and applied to molecularly imprinted polyacrylamide as an adsorbent material for alternate glyphosate and AMPA. The MIPs were prepared using the technique of molecular imprinting process in a "bulk", using acrylamide (AAm) as the functional monomer, ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) as a crosslinking reagent and 2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN) as radical initiator. In order to evaluate the selectivity of the materials were prepared in parallel without molecularly imprinted polymers (NIP - *Non Imprinted Polymer*) for each polymer synthesized in the absence of the template molecule. The characterization of the polymers was carried out using the thermogravimetry (TG), infrared (FT-IR), elemental analysis and scanning electron microscopy (SEM). For studies of adsorption model best described the balance for both analytes was the non-linear Langmuir-Freundlich adsorption sites for two, and the maximum sorption capacities were found to be 3.0 mg g^{-1} and 4.7 mg g^{-1} for MIP-GF and MIP-AMPA, respectively. Kinetic studies on the experimental data of both polymers best fitted to the pseudo-second-order model. Analysis conditions for competitive adsorption of the imprinted polymers was determined that these are 2.2 and 2.4 times more selective for MIP-GF and MIP-AMPA, respectively, as compared with the NIPs.

Keywords: glyphosate and AMPA, MIP, HPLC-FD.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE FORMAÇÃO DO MIP	10
FIGURA 2 ESQUEMA GERAL DA SÍNTESE DO MIP	23
FIGURA 3 ESQUEMA DA MONTAGEM DOS CARTUCHOS CONTENDO O MIP.	25
FIGURA 4 ESQUEMA DA EXTRAÇÃO DA AMOSTRA EM FRASCO ÂMBAR COM O CARTUCHO DE MISPE.....	26
FIGURA 5 ESTRUTURA DA ACRILAMIDA (AAM).....	37
FIGURA 6 ESTRUTURA DO GLIFOSATO E DO AMPA	37
FIGURA 7 ESTRUTURA DO ETILENO GLICOLDIMETACRILATO (EGDMA)	38
FIGURA 8 A REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA IMPRESSÃO E A REMOÇÃO DE GLIFOSATO A PARTIR DOS POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS	39
FIGURA 9 REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA PORCENTAGEM DE RECUPERAÇÃO DE GLIFOSATO E AMPA A PARTIR DO PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO.....	41
FIGURA 10 (A) ESPECTROS IR DO MIP-GF (1) SEM LAVAR, MIP-GF (2) APÓS A LAVAGEM E DO NIP-GF. (B) ESPECTROS IR DO MIP- AMPA (1) SEM LAVAR, MIP-AMPA (2) APÓS A LAVAGEM E DO NIP-AMPA.	42
FIGURA 11 MICROGRAFIAS ELETRÔNICAS DE VARREDURA DOS POLÍMEROS MIP-GF (A E B) E NIP-GF (C E D). AS IMAGENS FORAM AMPLIADAS EM 1000 (A E C) E 3000 VEZES (B E D).....	44
FIGURA 12 MICROGRAFIAS ELETRÔNICAS DE VARREDURA DOS POLÍMEROS MIP-AMPA (E E F) E NIP-AMPA (G E H). AS IMAGENS FORAM AMPLIADAS EM 1000 (E E G) E 3000 VEZES (F E H).....	45
FIGURA 13 PORCENTAGENS OBTIDAS ATRAVÉS DA ANÁLISE ELEMENTAR DE NITROGÊNIO, CARBONO, HIDROGÊNIO E ENXOFRE DOS POLÍMEROS, MIP-GF E SEU RESPECTIVO NIP-GF, BEM COMO DO MIP-AMPA E SEU RESPECTIVO NIP-AMPA.....	47
FIGURA 14. (A) CURVAS MULTIVARIADAS DAS ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICAS (TG) E DAS ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICAS DERIVADAS (DTG) DOS ADSORVENTES MIP-GF E NIP-GF. (B) CURVAS MULTIVARIADAS DE TG E DTG PARA O MIP-AMPA E NIP-AMPA.....	49
FIGURA 15 ESTUDO DE QT PARA DIVERSOS TEMPOS DE AGITAÇÃO MIP-GF (N = 2).....	51
FIGURA 16 MODELO CINÉTICO PSEUDO-SEGUNDA-ORDEM MIP-GF (N = 2).	52
FIGURA 17 MODELO CINÉTICO DE ADSORÇÃO ELOVICH PARA O MIP-GF (N=2).....	52
FIGURA 18 MODELO CINÉTICO PSEUDO-PRIMEIRA-ORDEM MIP-GF (N = 2).	53
FIGURA 19 MODELO CINÉTICO DIFUSÃO INTRAPARTÍCULA DO MIP-GF.	53

FIGURA 20 ESTUDO DE QT PARA DIVERSOS TEMPOS DE AGITAÇÃO MIP-AMPA (N = 2).	55
FIGURA 21 MODELO CINÉTICO PSEUDO-SEGUNDA-ORDEM MIP-AMPA (N = 2).	56
FIGURA 22 MODELO CINÉTICO PSEUDO-PRIMEIRA-ORDEM MIP-AMPA (N = 2).	56
FIGURA 23 MODELO CINÉTICO DE ADSORÇÃO ELOVICH PARA O MIP-AMPA (N = 2).	57
FIGURA 24. MODELO CINÉTICO DIFUSÃO INTRAPARTÍCULA DO MIP-AMPA (N = 2).	58
FIGURA 25 EFEITO DO pH NA PORCENTAGEM DE ADSORÇÃO DE GF NO MIP. CONCENTRAÇÃO DE GF 1,0 MG L ⁻¹ (N=2).	59
FIGURA 26 EFEITO DO TEMPO DE AGITAÇÃO NA CAPACIDADE DE ADSORÇÃO Q _E (MG DE GF ADSORVIDO/ G DE ADSORVENTE) DE GF NO MIP (N =2). CONCENTRAÇÃO DE GF 1,0 MG L ⁻¹ .	60
FIGURA 27 DADOS EXPERIMENTAIS OBTIDOS PARA CONSTRUÇÃO DAS ISOTERMA DE ADSORÇÃO DO MIP-GF (N =2).	60
FIGURA 28 ISOTERMA DE LANGMUIR-LINEAR NA ADSORÇÃO DE GF NO MIP (N =2).	61
FIGURA 29 ISOTERMA DE FREUNDLICH-LINEAR NA ADSORÇÃO DE GF NO MIP (N =2).	62
FIGURA 30 ISOTERMA DE LANGMUIR NÃO LINEAR NA ADSORÇÃO DE GF NO MIP.	63
FIGURA 31 ISOTERMA DE FREUNDLICH NÃO LINEAR NA ADSORÇÃO DE GF NO MIP.	63
FIGURA 32 ISOTERMA DE LANGMUIR-FREUNDLICH PARA DOIS SÍTIOS DE ADSORÇÃO NA ADSORÇÃO DE GF NO MIP.	64
FIGURA 33 ISOTERMA DE LANGMUIR-FREUNDLICH PARA UM SÍTIO DE ADSORÇÃO NA ADSORÇÃO DE GF NO MIP.	64
FIGURA 34 EFEITO DO pH NA PORCENTAGEM DE ADSORÇÃO DE AMPA NO MIP. CONCENTRAÇÃO DE AMPA 1,0 MG L ⁻¹ (N =2).	66
FIGURA 35 EFEITO DO TEMPO DE AGITAÇÃO NA CAPACIDADE DE ADSORÇÃO (Q _E) DE AMPA NO MIP-AMPA. CONCENTRAÇÃO DE AMPA 1,0 MG L ⁻¹ (N =2).	67
FIGURA 36 DADOS EXPERIMENTAIS OBTIDOS PARA CONSTRUÇÃO DAS ISOTERMA DE ADSORÇÃO DO MIP-AMPA (N =2).	67
FIGURA 37 ISOTERMA DE LANGMUIR-LINEAR NA ADSORÇÃO DE AMPA NO MIP (N =2).	68
FIGURA 38 ISOTERMA DE FREUNDLICH-LINEAR NA ADSORÇÃO DE AMPA NO MIP (N =2).	69
FIGURA 39 ISOTERMA DE LANGMUIR NÃO LINEAR NA ADSORÇÃO DE AMPA NO MIP.	69
FIGURA 40 ISOTERMA DE FREUNDLICH NÃO LINEAR NA ADSORÇÃO DE AMPA NO MIP.	70
FIGURA 41 ISOTERMA DE LANGMUIR-FREUNDLICH PARA UM SÍTIO DE ADSORÇÃO NA ADSORÇÃO DE AMPA NO MIP.	70
FIGURA 42 ISOTERMA DE LANGMUIR-FREUNDLICH PARA DOIS SÍTIOS DE ADSORÇÃO NA ADSORÇÃO DE AMPA NO MIP.	71

FIGURA 43 NO DETALHE, CROMATOGRAMAS GERADOS A PARTIR DAS INJEÇÕES DE CONCENTRAÇÕES DE 60 $\mu\text{G.L}^{-1}$ DE GLIFOSATO E AMPA.	76
FIGURA 44 CURVA ANALÍTICA OBTIDOS PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO E AMPA: 10, 20, 40, 60 E 80 $\mu\text{G L}^{-1}$. TÉCNICA APLICADA DE HPLC-FD, FASE MÓVEL: TAMPÃO TETRABORATO: ACN (55:45), VAZÃO DE 0,5 mL MIN^{-1} ; DETECÇÃO EM 310 NM E EXCITAÇÃO EM 260 NM.	76
FIGURA 45 NO DETALHE, CROMATOGRAMA OBTIDO A PARTIR DA INJEÇÃO DA AMOSTRA FORTIFICADA EXTRAÍDA DO MIP-GF SINTETIZADO COM A MISTURA DE SOLVENTE DMSO: CLOROFÓRMIO (1:1 v/v).	90
FIGURA 46 NO DETALHE, CROMATOGRAMA OBTIDO A PARTIR DA INJEÇÃO DA AMOSTRA FORTIFICADA EXTRAÍDA DO MIP-GF SINTETIZADO COM A MISTURA DE SOLVENTE H_2O : ACN (1:2 v/v).	90
FIGURA 47 NO DETALHE, CROMATOGRAMA OBTIDO A PARTIR DA INJEÇÃO DA AMOSTRA FORTIFICADA EXTRAÍDA DO MIP-GF SINTETIZADO COM A MISTURA DE SOLVENTE H_2O : ME OH (1:2 v/v).	91
FIGURA 48 CROMATOGRAMA OBTIDO A PARTIR DA INJEÇÃO DA AMOSTRA FORTIFICADA EXTRAÍDA DO MIP-AMPA SINTETIZADO COM A MISTURA DE SOLVENTE H_2O : ACN (1:2 v/v).	91

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 QUANTIDADE DE REAGENTES EMPREGADOS NA SÍNTESE DOS POLÍMEROS.....	22
TABELA 2 QUANTIDADE DE REAGENTES EMPREGADOS NA SÍNTESE DOS POLÍMEROS.....	24
TABELA 3 TESTE DE ADSORÇÃO REALIZADO NOS POLÍMEROS SINTETIZADOS COM DIFERENTES SOLVENTES.	40
TABELA 4 POROSIMETRIA DOS POLÍMEROS IMPRESSO (MIPs) E NÃO IMPRESSOS (NIPs).	45
TABELA 5 PORCENTAGEM MOLAR DO MONÔMERO ACRILAMIDA EMPREGADO NA SÍNTESE DO MIP-GF, NIP-GF, MIP-AMPA E NIP-AMPA.....	47
TABELA 6 PORCENTAGEM DE PERDA DE MASSA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA DO MIP-GF, NIP-GF, MIP-AMPA E DO NIP-AMPA.....	50
TABELA 7 PARÂMETROS CINÉTICOS DO MIP-GF. VALOR DE Q_E EXPERIMENTAL = 0,1670 $MG.G^{-1}$	54
TABELA 8 PARÂMETROS CINÉTICOS PARA O MIP-AMPA. VALOR DE Q_E EXPERIMENTAL = 0,2353 $MG G^{-1}$	58
TABELA 9 EQUAÇÕES DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO E ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS DAS ISOTERMAS AJUSTADAS COM RESPECTIVO ERRO PADRÃO (EP) E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO R^2 DO MIP-GF.....	65
TABELA 10 EQUAÇÕES DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO E ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS DAS ISOTERMAS AJUSTADAS COM RESPECTIVO ERRO PADRÃO (EP) E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO R^2 DO MIP-AMPA.	72
TABELA 11 PARÂMETROS RELACIONADOS AO EFEITO DE IMPRESSÃO (K_D , k , k') DO MIP-GF..	74
TABELA 12 PARÂMETROS RELACIONADOS AO EFEITO DE IMPRESSÃO (K_D , k , k') DO MIP-AMPA COM DIFERENTES ESTUDO DE SOLVENTES PARA GLIFOSATO E AMPA.....	75

LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1 MODELO LINEAR DE LANGMUIR	15
EQUAÇÃO 2 MODELO NÃO LINEAR DE LANGMUIR	15
EQUAÇÃO 3 MODELO LINEAR DE FREUNDLICH.....	15
EQUAÇÃO 4 MODELO NÃO LINEAR DE FREUNDLICH	15
EQUAÇÃO 5 MODELO HÍBRIDO DE LANGMUIR-FREUNDLICH PARA UM SÍTIO DE LIGAÇÃO	16
EQUAÇÃO 6 MODELO HÍBRIDO DE LANGMUIR-FREUNDLICH PARA DOIS SÍTIO DE LIGAÇÃO	16
EQUAÇÃO 7 MODELO DE PSEUDO-PRIMEIRA-ORDEM	28
EQUAÇÃO 8 MODELO DE PSEUDO-SEGUNDA-ORDEM	29
EQUAÇÃO 9 MODELO EQUAÇÃO DE ELOVICH	29
EQUAÇÃO 10 MODELO DIFUSÃO INTRAPARTÍCULA	30
EQUAÇÃO 11 CALCULO DA QUANTIDADE DE ANALÍTO ADSORVIDO NO MIP.....	31
EQUAÇÃO 12 CALCULO DA PORCENTAGEM DE ANALÍTO ADSORVIDO NO MIP.....	31
EQUAÇÃO 13 CALCULO DO COEFICIENTE DE DISTRIBUIÇÃO DO ANALITO E INTERFERENTE	32
EQUAÇÃO 14 CALCULO DA ESTIMATIVA DO EFEITO DA IMPRESSÃO NA SELETIVIDADE.....	32
EQUAÇÃO 15 REPRESENTAÇÃO DAS ESTRUTURAS QUÍMICAS DE GLIFOSATO E DO AMPA, E A REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO COM FMOC-CL.....	33
EQUAÇÃO 16 CALCULO DO LIMITE DE DETECÇÃO	35
EQUAÇÃO 17 CALCULO DO LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	35

LISTA DE ABREVIATURA

AAm – acrilamida

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ACN - Acetonitrila

AIBN- 2'2 azo-bis-iso-butironitrila

AMPA – ácido aminometilfosfônico

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BET- Brunauer-Emmet-Teller

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

DMSO – dimetilsulfóxido

DTG – Análise térmica diferencial

EGDMA- Etileno glicol-dimetacrilato

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPA – *Environment Protection Agency*

FMOC-Cl - cloreto de fluorenilmetilcloroformato

GF – glifosato

HAc – ácido acético

HPLC-FD - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de fluorescência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography – fluorescence detector*.

IEA - Instituto de Economia Agrícola

IR-FT - Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier

LD – Limite de detecção

LECA - Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais

LQ – Limite de quantificação

MeOH- Metanol

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

MIP- Polímero de Impressão molecular, do inglês *Molecularly Imprinted Polymer*

MIP-A - Polímero de Impressão Molecular para o glifosato sintetizado com a mistura de solventes ACN: água (2:1 v/v).

MIP-AMPA- Polímero de Impressão Molecular para o AMPA sintetizado com a mistura de solventes ACN: água (2:1 v/v).

MIP-GF- Polímero de Impressão Molecular para o glifosato sintetizado com a mistura de solvente DMSO: Clorofórmio (1:1 v/v)

MIP-M- Polímero de Impressão Molecular para o glifosato sintetizado com a mistura de solvente MeOH: água (2:1 v/v)

MISPE- Extração em Fase Sólida Molecularmente Impressa, do inglês *Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction*

NIP- Polímero Não Impresso, do inglês *Non Imprinted Polymer*

NIP-AMPA- Polímero Não Impresso sintetizado com a mistura de solventes ACN: água (2:1 v/v).

NIP-GF - Polímero Não Impresso para o glifosato sintetizado com as misturas de solventes DMSO:clorofórmio (1:1 v/v)

NISPE- Extração em Fase Sólida Não Impressa, do inglês *Non Imprinted Solid-Phase Extraction*

PAAm - Poliacrilamida

R² - Coeficiente de correlação

RLC- Reagente de ligação cruzada

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola

SPE - Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid-Phase Extraction*

TG - Termogravimetria

Sumário

RESUMO.....	IX
ABSTRACT	X
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS	XIV
LISTA DE EQUAÇÕES.....	XV
LISTA DE ABREVIATURA	XVI
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 FONTES DE GLIFOSATO NO AMBIENTE	5
2.2 PREPARO DE AMOSTRA DE GLIFOSATO E AMPA.....	5
2.3 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DO GLIFOSATO E AMPA.....	7
2.4 POLÍMERO DE IMPRESSÃO MOLECULAR (MIP)	9
2.4.1 Estratégia e procedimento de impressão molecular	9
2.4.2 Caracterização do adsorvente.....	11
2.4.3 Cinética de adsorção.....	12
2.4.4 Isotermas de adsorção	13
3 OBJETIVOS	18
3.1 OBJETIVO GERAL.....	18
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4 PARTE EXPERIMENTAL	20
4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.....	20
4.2 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	21
4.3 PREPARAÇÃO DOS POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSOS.....	21
4.3.1 Síntese dos MIPs	21
4.3.2 Síntese dos NIPs.....	23
4.3.3 Extrações do <i>template</i> das matrizes poliméricas (MIPs)	24
4.4 TESTES DA CAPACIDADE DE ADSORÇÃO	25
4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS MIPs E DOS NIPs.....	26
4.5.1 Medidas de infravermelho.....	26
4.5.2 Medidas de microscopia eletrônica de varredura	27

4.5.3	Medidas de área superficial específica (SBET)	27
4.5.4	Medidas de volume específico dos poros e diâmetro médio dos poros	27
4.5.5	Análise Elementar	27
4.5.6	Medidas termogravimétricas	28
4.6	MODELOS CINÉTICOS	28
4.6.1	Cinética de Pseudo-primeira ordem	28
4.6.2	Cinética de Pseudo-segunda ordem	29
4.6.3	Modelo Equação de Elovich	29
4.6.4	Modelo difusão intrapartícula	30
4.7	CONSTRUÇÕES DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO	30
4.7.1	Otimização do pH e do tempo de agitação	31
4.8	ESTUDOS DE IMPRESSÃO DOS MIPs	32
4.9	DERIVATIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÕES DE GLIFOSATO E AMPA POR HPLC-FD	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	SÍNTESES DOS POLÍMEROS COM IMPRESSÃO MOLECULAR	37
5.1.1	Extração do <i>template</i> da matriz polimérica	39
5.2	TESTES DE ADSORÇÃO	40
5.3	CARACTERIZAÇÃO DOS MIPs E DOS NIPs	41
5.3.1	Espectrometria de infravermelho	41
5.3.2	Medidas de microscopia eletrônica de varredura	43
5.3.3	Análise da área superficial	45
5.3.4	Análise Elementar dos MIPs e dos NIPs	46
5.3.5	Medidas termogravimétricas	48
5.4	PARÂMETROS CINÉTICOS	50
5.4.1	Parâmetros Cinéticos MIP-GF	50
5.4.2	Parâmetros Cinéticos MIP-AMPA	54
5.5	ISOTERMAS DE ADSORÇÃO	58
5.5.1	Isoterma de adsorção MIP-GF	59

5.5.2 Isoterma de adsorção MIP-AMPA	66
5.6 ESTUDOS DE IMPRESSÃO DOS MIPS	73
5.6.1 Teste de Seletividade MIP-GF	73
5.6.2 Teste de Seletividade MIP-AMPA.....	74
5.7 MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO VIA HPLC-FD	75
6. CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
APÊNDICE	89

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Segundo dados do Instituto de Economia Agrícola (IEA), nos últimos anos a região de São José do Rio Preto tem apresentado um crescente aumento da sua área territorial destinada ao cultivo de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*), alcançando 186.454,50 ha, correspondente a aproximadamente 23% da área territorial da bacia hidrográfica (IEA, 2009).

Com a intensificação das atividades agropecuárias uns dos principais impactos ambientais causados referem-se ao uso intensivo de fertilizantes e defensivos agrícolas. Segundo dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG), 2013, o Brasil é o maior mercado consumidor de defensivos agrícolas no mundo, sendo que no ano de 2012 os agricultores brasileiros chegaram a consumir 823,2 milhões de toneladas de defensivos agrícolas. Segundo dados do IBAMA, 2009, o estado de São Paulo é o maior comercializador de defensivos agrícolas do país. Dentre os herbicidas empregados nas atividades agrícolas destaca-se o glifosato e seus sais, comercializado pela Monsanto como “Roundup”. No Brasil a comercialização deste herbicida está em primeiro lugar, representando 76% da classe de uso de herbicida, e no mundo é o segundo maior consumidor, ficando atrás somente dos Estados Unidos (SINDAG, 2013).

Devido à sua elevada eficiência, altas taxas de degradação e toxicidade reduzida para animais, o glifosato tem sido extensivamente usado no meio agrícola no controle de ervas daninhas (IBAMA, 2009; SINDAG, 2013). No entanto, ainda há muitas dúvidas quanto a sua distribuição e estoque no ambiente, uma vez que o tipo de solo e sedimento influenciam a capacidade de adsorção/dessorção/degradação, evidenciando a necessidade de programas de monitoramento deste composto nas matrizes ambientais (AMARANTE JUNIOR *et al.*, 2002).

No solo, o glifosato, se degrada através de duas rotas em pouco tempo e a baixas temperaturas. A primeira ocorre através da ação de uma bactéria *Agrobacterium radiobacter* ou da *Enterobacter aeroneges* (enzima C-P liase) produzindo o metabólito intermediário e alternativo a sarcosina, que entra no metabolismo destes microorganismos e de outros, e se degrada. A segunda rota consiste na clivagem da molécula produzindo o ácido aminometilfosfônico, AMPA, como principal metabólito e que possui biodegradação mais lenta que a molécula inicial (AMARANTE JUNIOR *et al.*, 2002).

Para que possa ser feito o controle destes compostos no meio ambiente faz-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos viáveis de determinação e quantificação. Devido a grande complexidade das matrizes ambientais e a baixas concentrações que são encontradas,

são necessárias técnicas de extrações que tem como objetivo principal a purificação do analito e seu enriquecimento (SOUZA *et al.*, 2006).

Dentre as técnicas de extração que já estão bem estabelecidas podemos citar: extração líquido-líquido (ELL), extração em fase sólida (SPE) ou cromatografia de troca iônica (KHROLENKO, WIECZOREK; 2005). Em comparação com outras técnicas, a extração em fase sólida tem-se destacado no emprego de MIP como material sorvente, por apresentar alto grau de seletividade quando comparada com outras técnicas, como é o caso das resinas de troca iônica e a sílica modificada (C₁₈) e também por apresentar maior estabilidade que os imunossorventes. Apesar de todas estas vantagens a utilização do MIP ainda é pouco citada na literatura (TARLEY *et al.*, 2002).

Porém, tanto o glifosato como o AMPA apresentam algumas características, tais como, alta solubilidade em meio aquoso, baixa solubilidade em solventes orgânicos, alta polaridade, baixa volatilidade e ausência de grupos cromóforos que absorvam na região do visível que dificultam a sua determinação (MILES & MOYE, 1988; SOUZA, *et al.*, 2006). Devido estas características apresentadas fazem-se necessárias reações de derivatizações para determinação e quantificação por métodos de espectroscópicos ou cromatográficos

Assim sendo, neste trabalho é proposto o preparo e aplicação de poliacrilamida molecularmente impressa como adsorvente de glifosato e AMPA para futura aplicação em como material extrator, e a aplicação do método de detecção e quantificação desses compostos a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência com derivatização pré-coluna.

REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FONTES DE GLIFOSATO NO AMBIENTE

Como a maioria dos herbicidas utilizados no meio agrícola, o glifosato (N-(fosfonometil)glicina) é uma molécula organofosforada de origem sintética, sendo a sua presença vinculada estritamente à ação antrópica. Esta substância é não seletivo, pós-emergente e tem sido muito utilizado na agricultura no controle de ervas daninhas anuais e perenes. (ABREU, *et al.*, 2008; ARAÚJO, 2002; SOUZA, *et al.*, 2006).

O mecanismo de ação em plantas está relacionado à inibição da síntese de aminoácidos pelo bloqueio do sistema enzimático responsável pelo metabolismo dessas moléculas, confere ao glifosato elevada eficiência na eliminação de plantas daninhas. Devido a esta característica e também à sua baixa toxicidade, o glifosato é empregado em 26 culturas, das quais podemos citar, o algodão, ameixa, arroz, aveia-preta, azevém, banana, cacau, café, citros, coco, feijão, florestas de eucalipto e pinus, fumo, maçã, mamão, milho, nectarina, pastagens, pera, pêssego, seringueira, soja, trigo e uva. No estado de São Paulo a principal cultura é a cana-de-açúcar (ABREU, *et al.*, 2008; SILVA, 2011; MAPA, 2010).

Segundo Amarante Junior e colaboradores (2002), a frequência de aplicação do glifosato depende do tipo de erva daninha a ser eliminada, variando de aplicação em dose única para plantas daninhas perenes e anuais até o controle frequente desde a germinação da planta até sua fase adulta, como é o caso da *Digitaria sanguinalis*. Segundo o mesmo autor, o método de aplicação varia de acordo com o tipo de plantação em que é utilizado, e pode ser realizada antes do plantio ou após a semeadura da cultura desejada.

Dessa maneira, o emprego deste herbicida nessas culturas pode contribuir para o incremento nos diversos compartimentos ambientais, como água, solo e sedimento. Estes compostos podem ser transportados do solo para a água superficial, sendo em seguida transportados a longas distâncias e depositado nos sedimentos dos rios.

2.2 PREPARO DE AMOSTRA DE GLIFOSATO E AMPA

Muitos métodos analíticos têm sido desenvolvidos empregando diferentes materiais para *cleanup* ou mesmo para concentrar a amostra, a fim de melhorar a sensibilidade e principalmente a seletividade na determinação de diferentes agrotóxicos em amostras

ambientais (PATSIAS, et al., 2001; DRUART, et al., 2011; CORBERA, et al., 2006, STALIKAS, 2002).

Existem diferentes etapas de separação/pré-concentração que envolve diversos processos, tais como eletroquímicos, precipitação ou co-precipitação. Para o procedimento de pré-concentração existem também outras técnicas que são utilizadas amplamente como a extração líquido-líquido convencional, extração por ponto nuvem, a extração em fase sólida e a filtração em membrana (ANDRADE, 2010).

A extração líquido-líquido é amplamente utilizada como técnica de separação, apresentam como características a eficiência na remoção de interferentes e na pré-concentração de analitos. Apesar destas vantagens a mesma apresenta desvantagens pela geração de grandes volumes de resíduos orgânicos (STALIKAS, 2002).

A extração em fase sólida (SPE) apresenta vantagens devido ao baixo consumo de reagentes, rapidez, simplicidade e facilidade de automação, além da característica de pré-concentração do analito (ANDRADE, 2010). O SPE é constituído de uma coluna de extração a qual em seu interior possui um material adsorvente inorgânico, como a alumina, carvão ativo, sílica, ou adsorventes orgânicos, como as resinas quelantes, resinas de troca iônica entre outros (OLIVEIRA, 1999).

O glifosato e o seu principal produto de degradação, o AMPA, apresentam diversas características que dificultam sua determinação analítica. Devido à alta polaridade e a tendência em formar espécies aniônicas, o composto é inicialmente ligado à espécie iônica do solo por meio do grupo fosfato e passa a interagir com os íons da solução, por este motivo os processos de extração se baseiam basicamente em reações ácido-base. Nestas reações ácido-base são utilizadas geralmente soluções de bases fortes, sais de bases forte, bases fracas, ou ácidos fracos para extração (BENETTI, 2001; YOSHIOKA, *et al.*, 2011).

As eficiências para a extração do glifosato e do AMPA em solo estão relacionadas diretamente com o tipo de solo, e em geral melhores resultados tem sido obtido para solos composto de materiais orgânicos (ARAÚJO, 2002). Para o processo de extração de glifosato e seu metabólito em amostras de água, as maiores dificuldades na análise se deve a sua alta polaridade e solubilidade em água (CORBERA, *et al.*, 2009).

Corbera e colaboradores, 2006, compararam a eficiência de duas resinas de troca aniônica Amberlite IRA-416 e IRA-900 e uma de sílica comercial modificada, (ISOLUTE-NH) para extração e pré-concentração do herbicida glifosato e AMPA. Os autores obtiveram um fator de enriquecimento de 125 vezes empregando a sílica comercial ISOLUTE-NH, entretanto, uma baixa recuperação para o AMPA foi observada.

Devido às propriedades do glifosato e de seu principal metabólito, faz-se necessário o desenvolvimento de matérias adsorventes que tenham a capacidade de pré-concentrar/extrair de forma seletiva em matrizes ambientais. Além das resinas de troca catiônica e aniônica para extração e pré-concentração, o MIP (*Molecularly Imprinted Polymers*) vem sendo amplamente empregado com grande destaque como material sorvente em Extração em Fase Sólida (SPE), pois oferecem elevado grau de seletividade quando comparado com outros sorventes, como a sílica modificada C₁₈ e resinas de troca iônica (CACHO, *et al.*, 2009).

Além da seletividade, os MIPs, podem ser empregados para pré-concentrar os analitos de interesse conferindo maior sensibilidade ao método, além de apresentar baixo custo. Contudo, ainda podem ser aplicados como fases estacionárias cromatográficas, catalizadores seletivos e componentes de sensores com seletividade pré-determinada para o analito de interesse (ZHAO *et al.*, 2011). Como ainda não há relatos na literatura do desenvolvimento destes materiais seletivos para pré-concentração/extração em fase sólida de glifosato e AMPA, faz-se necessário o estudo, preparo e avaliação para aplicação em matrizes ambientais.

2.3 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DO GLIFOSATO E AMPA

Após a etapa de extração, a determinação do glifosato utilizando técnicas de cromatograficas necessita de adaptações, decorrente devido as propriedades físico-químicas e a ausência de grupos cromóforos dificultam as análises deste herbicida. Estas adaptações incluem basicamente reações de derivatização ou alteração de alguma propriedade física que possa ser relacionada à quantidade de glifosato na amostra (CORBERA, *et al.*, 2006).

Assim sendo, diferentes métodos empregando diversas técnicas têm sido propostos para a determinação do glifosato e seus metabólitos, dentre eles podemos citar os métodos por eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato (SEE, *et al.*, 2010), eletroquímicos (MORAES, *et al.* 2010; SÁNCHEZ-BAYO, 2010) e cromatográficos.

O emprego de métodos cromatográficos tem sido realizada por diferentes técnicas analíticas, das quais podemos citar a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector Ultravioleta/visível e fluorescência (AMARANTE, JR *et al.*, 2002; ABREU, *et al.*, 2008), a HPLC com detector de espectrometria de massas (HPLC/EM) (AMARANTE JR, *et al.*, 2002), a cromatografia em fase gasosa com detector de ionização em chama (CG-DIC) (KATAOKA, *et al.*, 1991; EBERBACH E DOUGLAS, 1991) a cromatografia em fase gasosa

acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) (STALIKAS & PILIDIS, 1999; KUDZIN, *et al.*, 2002).

A determinação por HPLC com detector de UV/visível e fluorescência é dificultada, como dito anteriormente, devido este herbicida não possuir em sua molécula grupos cromóforos observáveis satisfatoriamente por esses detectores. Entretanto, este problema pode ser resolvido por meio de reações de derivatização, onde são feitas modificações em sua estrutura com a introdução de grupos cromóforos ou fluorescentes (AMARANTE JR, *et al.*, 2002; SOUZA, *et al.*, 2006). O processo de derivatização em alguns casos é feito na etapa de extração, entretanto na maioria das vezes, os procedimentos são realizados em etapas que antecedem (pré-coluna) ou procede (pós-coluna) a separação cromatográfica (KÜSTERS & GERHARTZ, 2010; MALLAT & BARCELÓ, 1998; SOUZA, *et al.*, 2006).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) recomenda um método para determinação do glifosato e AMPA empregando-se a técnica HPLC com detector de fluorescência, sendo a detecção feita depois de uma derivatização pós-coluna do glifosato (ALMEIDA, 2010). Os limites de detecção de métodos empregando essas técnicas são em torno de 20 ng para Glifosato e 2 ng para AMPA, em uma determinação feita com $\lambda_{exc} = 340$ nm e $\lambda_{em} = 550$ nm (AMARANTE JR., *et al.*, 2002). Além destes, alguns métodos empregando a técnica de HPLC com detector de espectrometria de massas com ionização por *electrospray* têm sido propostos para determinação deste herbicida (IBÁÑEZ, *et al.* 2005; IBÁÑEZ, *et al.* 2006). Ibáñez e colaboradores, 2005, determinaram o glifosato e AMPA em amostras de água e solo e obtiveram limites de detecção de 5 ng L⁻¹ em água e 5 µg kg⁻¹ em solo. Entretanto, esses autores destacam dificuldades na etapa de pré-concentração dos analitos.

A técnica de cromatografia gasosa utilizando detectores específicos como detector de ionização por chama e por captura de elétrons (KATAOKA, *et al.*, 1991; EBERBACH E DOUGLAS, 1991) ou acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), também tem sido empregada para determinação de glifosato e seus metabólitos (ROYER, *et al.*, 2000; STALIKAS E PILIDIS, 2000; MOTOJYUKU, *et al.*, 2008). Entretanto, devido às características desses compostos como baixa volatilidade, elevada polaridade, bem como alta solubilidade em água, assim como para a maioria das técnicas analíticas faz-se necessária uma etapa prévia de derivatização (HAO, *et al.*, 2011).

2.4 POLÍMERO DE IMPRESSÃO MOLECULAR (MIP)

2.4.1 Estratégia e procedimento de impressão molecular

O procedimento para obtenção do polímero molecularmente impresso é composto em três etapas principais, a primeira é o pré-arranjo do monômero ao redor da molécula molde, a segunda etapa é a polimerização que se inicia na presença de um reagente de ligação cruzada (RLC) e a terceira etapa é a remoção da molécula molde da matriz polimérica por um procedimento de extração, obtendo-se assim microcavidades seletivas do seu analito de interesse (SOUZA E BARBOSA, 2009).

Como demonstrado na Figura 1, que ilustra o princípio de impressão molecular, inicialmente para síntese do MIP deverá se escolher o analito e o monômero a ser empregado, ao qual o analito deve conter grupos funcionais capazes de interagir fortemente com o monômero, a fim de obter um polímero estável. A escolha do monômero é ditada pela natureza do analito, ou seja, analitos que possuem grupos básicos interagem mais facilmente com monômeros que contemplam grupos ácidos. Em contrapartida, monômeros com caráter básico interagem preferencialmente com analitos ácidos. Monômeros como ácido acrílico, ácido meta-acrílico, ácido p-vinilbenzóico, 2-vinilpiridina, 4-vinilimidazol têm sido utilizados, entretanto a 4-vinilpiridina tem apresentado melhores resultados (^bTARLEY, *et al.*, 2005).

A obtenção do MIP ocorre através da polimerização de uma molécula molde a ser impressa, de tal forma que o esqueleto polimérico é formado ao redor do analito ou de uma molécula análoga (TURIEL, *et al.*, 2001). A interação entre analito-monômero podem ocorrer através de ligações covalentes ou não covalentes, ligação de hidrogênio, interação dipolo-dipolo, interação iônica ou por interação hidrofóbica (AL-KINDY *et al.*, 2000).

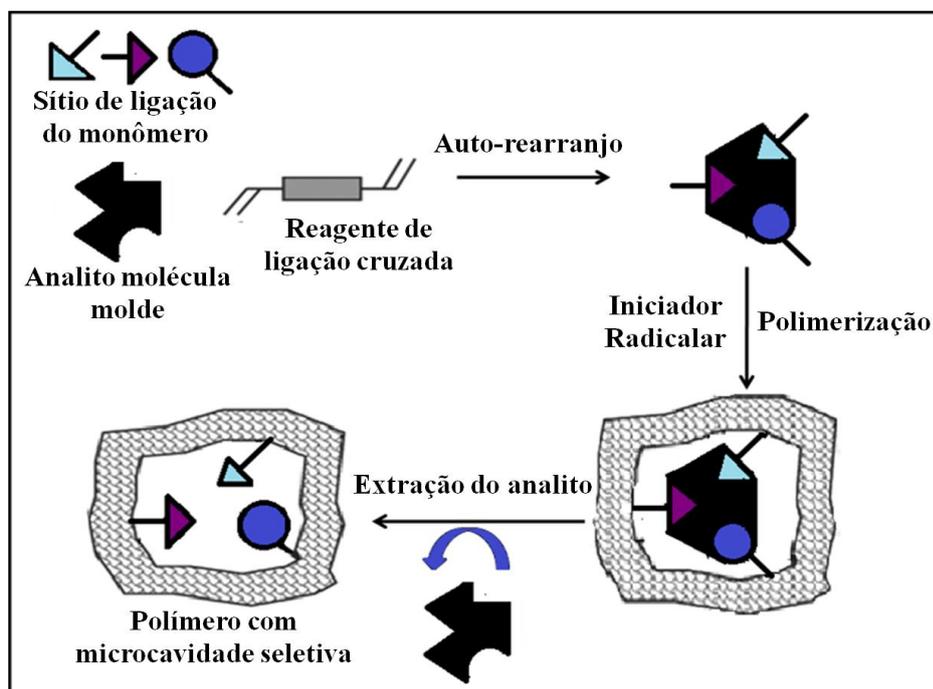
Para que a reação de polimerização se inicie faz-se necessário a adição de um iniciador radicalar. Dentre vários iniciadores radicalares que tem sido empregado na síntese do MIP, podemos citar o 2,2-azo-bis-iso-butironitrila (AIBN), azo-bis-dimetilvaleronitrila (ABDV), dimetilacetal de benzila, peróxido de benzoíla (BPO) e o ácido 4,4-azo-bis(4-ciano pentaenóico (TURIEL, *et al.*, 2001).

A fim de assegurar a seletividade dos MIP, empregada-se reagentes que promovem ligações cruzadas nos polímeros, contribuindo para melhorar a estabilidade do complexo “analito-monômeros” e, conseqüentemente a rigidez do sítio seletivo formado. Vários

reagentes têm sido empregados, dos quais podemos citar o N,N'-metileno-bis-acrilamina, N,O-bisacrilóila-L-fenilalaninol, N,N'-fenilendiacrilamida, sendo o etileno glicol dimetacrilato (EGDMA) o mais utilizado, entretanto resultados semelhantes ou melhores tem sido obtidos como o trimetilpropano trimetacrilato (TRIM) (MARTÍN-ESTEBAN *et al.*, 2001, KOOHPAEI, *et al.*, 2008).

O polímero obtido após a reação é triturado resultando em pequenas partículas, usualmente na escala de micrômetro, a molécula molde é removida da matriz polimérica por meio de solvente, ou, quando necessário, por meio de clivagem química se a molécula estabelecer ligação covalente com o monômero. O polímero resultante, após a remoção da molécula molde, disporá de microcavidades que são complementares em tamanho, forma e funcionalidade para o modelo, capazes de reter seletivamente a molécula molde presente numa amostra complexa. E, posteriormente, pode ser empregado como um material para adsorção dos compostos de interesse analítico (TARLEY *et al.*, 2005).

Figura 1 Representação esquemática do processo de formação do MIP



Fonte: (Adaptado de TARLEY, *et al.*, 2005)

A polimerização em “bulk” é o método mais comum de preparo do MIP, sendo este um sistema homogêneo, onde a reação é conduzida em frascos selados contendo monômero, analito, solvente, RLC e iniciador radicalar (NETO, 2010).

Devido a estas características o MIP apresenta diversas vantagens que torna sua aplicação viável em várias condições dentro das técnicas analíticas, tais como extração em fase sólida (SPE), microextração em fase sólida, detecção química e técnicas de separação (BARAHONA *et al.*, 2011; ^aTARLEY, *et al.*, 2005).

A elevada seletividade da matriz polimérica por um composto de interesse em uma matriz complexa tem se tornado muito atrativo para utilização destes materiais como adsorventes seletivos em extração em fase sólida (SPE), além desta característica os polímeros impressos podem ser reutilizados várias vezes sem apresentar perdas significativas no desempenho, são de fácil preparação e baixo custo, e essas vantagens tem permitindo a popularização da técnica de preparação de amostras de extração em fase sólida impresa molecularmente (MISPE) e seu emprego no isolamento e quantificação de muitos analitos em matrizes reais complexas (LAI *et al.*, 2004).

2.4.2 Caracterização do adsorvente

A caracterização do material adsorvente é uma etapa importante, uma vez que a capacidade de adsorção deste material é determinada principalmente pela textura (área superficial e porosidade) e pela capacidade de adsorção dos analitos de interesse, a qual depende das características químicas de superfície. Porém, dentre todas as etapas que estão envolvidas durante o preparo dos MIPs, a caracterização é a mais difícil de ser feita, devido o procedimento de impressão são realizados em nível molecular e os polímeros formados são não solúveis (SHIMMEL, 2008).

Para a caracterização física normalmente é determinada a área superficial do adsorvente empregando-se N_2 e os dados da pressão de vapor são ajustados pelo modelo de BET (Brunauer, Emmett, Teller). Já a caracterização química da superfície do adsorvente tem como principal objetivo a determinação de heteroátomos, seus tipos de ligação e a natureza dos grupos de superfície. A caracterização química envolve também a micro análise elemental de carbono, nitrogênio, hidrogênio, e etc. dos materiais sintetizados, permitindo a verificação de co-polímeros (ANDRADE, 2010; SHIMMEL, 2008).

A espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier é empregada para a determinação dos grupos funcionais e para a verificação de ligações químicas nos MIPs. O método é baseado no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequência de vibrações específicas, as quais correspondem aos níveis de energia da molécula, ou níveis vibracionais. Estas frequências vibracionais dependem de características que cada molécula

possui, tais como forma da superfície de energia potencial, geometria molecular, massa dos átomos e, eventualmente, o acoplamento vibrônico (ALMEIDA NETO, 2011; SCHIMMEL, 2008).

A caracterização morfológica é realizada através de técnicas como a microscopia eletrônica de varredura (MEV), porosimetria com sorção de nitrogênio e experimentos com solventes, são utilizadas para verificar o tamanho e a quantidade dos poros distribuídos na área superficial. O MEV tem como princípio a exploração da superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas, através de um feixe de elétrons de pequeno diâmetro e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica, cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente. Diferentes características podem ser apresentadas na imagem formada a partir do sinal captado na varredura eletrônica de uma superfície, uma vez que a imagem resulta da amplificação de um sinal obtido de uma interação entre o feixe eletrônico e o material da amostra (DEDAVID *et al.*, 2010).

Para a identificação das fases, como para quantificação e a estabilidade dos polímeros impressos a altas temperaturas são utilizadas as análises térmicas termogravimétricas (TG) e análise térmica diferencial (DTG). As mesmas podem ser realizadas com quantidades mínimas de amostras (variando de miligrama a grama), onde são submetidas a um aquecimento com controle de temperatura preciso, para que assim sejam monitoradas as mudanças ocorridas em decorrência, geralmente da temperatura. Na TG monitora-se e quantifica-se com o intermédio de uma microbalança de precisão qualquer perda ou ganho de massa da amostra durante o aquecimento controlado. Já no caso da DTG, indica as transformações endotérmicas e exotérmicas através da utilização de um microtermopar, onde analisa a temperatura da amostra e compara-o com a temperatura de um padrão inerte, que geralmente é a alumina, analisado simultaneamente por outro termopar (ALMEIDA NETO, 2011).

2.4.3 Cinética de adsorção

A determinação da cinética de adsorção é de suma importância para avaliação dos polímeros impressos, pois por meio dela pode-se determinar o tempo de equilíbrio, o mecanismo de adsorção, processos de reações químicas e a velocidade de transporte de massa em que ocorre a adsorção do analito na superfície da fase sólida, ou seja, ela descreve a velocidade com as quais as moléculas do adsorvato são adsorvidas pelo adsorvente, no caso o

MIP, sendo que esta velocidade depende das características físico-químicas do adsorvato, do adsorvente e das propriedades das soluções, como temperatura, pH e concentração (SCHIMMEL, 2008).

Diversos modelos cinéticos são propostos para demonstrar a adsorção de um analito sobre um adsorvente. Dentre eles podemos citar os modelos pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem, equação de Elovich e difusão intrapartícula (ANDRADE, 2010).

O modelo pseudo-primeira ordem é uma análise simplificada de cinética de adsorção, e é uma das equações mais utilizadas para a velocidade de adsorção de soluto em solução líquida, sendo esta a primeira equação proposta por Lagerdreen para a velocidade de adsorção de um sistema sólido/líquido, baseado na capacidade do sólido. O modelo pseudo-segunda ordem, foi desenvolvido por Ho e McKay, este representa uma adsorção química dependente do tempo (DEBRASSI *et al.*, 2011; ANDRADE, 2010; FERNANDES, 2005).

A etapa de adsorção sobre a superfície interna é um mecanismo instantâneo, quando o mecanismo de difusão intrapartícula é muito lento pode ser uma etapa limitante do processo de adsorção. O modelo cinético de difusão intrapartícula indica que duas ou mais etapas limitam o processo de adsorção, onde, a adsorção instantânea ou adsorção na superfície externa é a primeira etapa. A etapa limitante onde ocorre a difusão dentro da partícula é a segunda etapa, sendo o estágio de adsorção gradual. O estágio de equilíbrio final ocorre na terceira etapa, onde, decorrente das concentrações extremamente baixas do adsorvato na solução a difusão dentro da partícula começa a diminuir (DEBRASSI *et al.*, 2011; ROYER, 2008; FERNANDES, 2005).

A equação de Elovich é uma equação cinética e descreve reações envolvendo quimissorção de gases. Nesta equação ocorre um decréscimo da velocidade com o tempo, decorrente do aumento da cobertura da superfície. Sistemas em que a superfície do adsorvente é heterogênea é frequentemente representada por esta equação (FERNANDES, 2005; ROYER, 2008).

2.4.4 Isotermas de adsorção

Uma das informações mais importantes para se modelar processos isotérmicos de separação são as isotermas de equilíbrios, pois elas descrevem quantitativamente a distribuição de equilíbrio de um soluto entre as duas fases envolvidas no processo em uma larga faixa de concentração. Existem vários modelos de equilíbrio que estão sendo

desenvolvidos de acordo com o tipo de processo que será utilizado. Dentre eles podemos destacar as isotermas de troca iônica ou de adsorção (SCHIMMEL, 2008; ALMEIDA NETO, 2011).

Isotermas de troca iônica descrevem a adsorção dos íons liberados. Estes dados são obtidos por meio da relação do emprego da Lei de ação das massas que tem como desvantagem a dificuldade de identificar as espécies químicas que são liberadas pelo adsorvente e suas respectivas concentrações na solução (ALMEIDA NETO, 2011).

As isotermas de adsorção mostram a capacidade máxima de adsorção da fase sólida e também o tipo de interação que ocorre entre o adsorvato e o adsorvente através de modelos matemáticos, ou seja, é um processo pelo qual um componente presente em um gás ou líquido adere à superfície de um sólido, que no caso do estudo são os polímeros impressos, isso depende da presença de cargas na superfície do adsorvato, ou por poros contidos na superfície do material (OLIVEIRA, 2013).

A intensidade do efeito de adsorção depende de alguns fatores, dentre eles podem ser citados a temperatura, a natureza, a concentração do adsorvente e adsorvato, pH do meio, solubilidade do soluto, tempo de contato, agitação, entre outros (DINIZ, 2013).

Existem duas classificações para os fenômenos de adsorção, que são a adsorção física, ou fisissorção, onde ocorre deposição de mais de uma camada de adsorvato sobre a superfície do adsorvente em um processo reversível e rápido, e adsorção química, ou quimissorção, que envolve interação entre o adsorvente e o adsorvato (ANDRADE, 2010).

Dentre as isotermas que são amplamente utilizadas para descrever a relação da quantidade de determinado analito ou composto químico adsorvido pelo adsorvente e a quantidade remanescente na solução de equilíbrio, podemos citar os modelos de isotérmicos lineares e não lineares de Langmuir e Freundlich, os modelos simples e duplo não lineares de Langmuir-Freundlich (ANDRADE, 2010; OLIVEIRA, 2013).

A isoterma de Langmuir foi inicialmente utilizada para descrever a adsorção de gases por sólidos, em que a superfície de adsorção é homogênea. Neste modelo a adsorção ocorre em sítios específicos, não ocorre interação com a molécula do soluto, e quando a camada monomolecular cobre totalmente a superfície do adsorvente a adsorção se torna máxima. A superfície do material que é representado por este modelo é composto por números finitos de sítios que estão distribuídos uniformemente com iguais energias onde não há interação entre eles (OLIVEIRA, 2013).

O modelo linear e não linear de Langmuir estão representados nas Equações 1 e 2, respectivamente, onde a variável K ($L g^{-1}$) indica a constante de Langmuir relacionada com a

afinidade adsorvato-adsorvente Q_e (mg g^{-1}) e C_e (mg L^{-1}) representam a concentração na fase líquida no equilíbrio e na fase sólida, respectivamente e o parâmetro b (mg g^{-1}) indica a quantidade máxima adsorvida na monocamada (OLIVEIRA, 2013).

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{K_1} + \frac{Q_e}{b}$$

Equação 1

$$Q_e = \frac{KbC_e}{(1 + KC_e)}$$

Equação 2

Para o modelo isotérmico de Freundlich a energia de adsorção decresce logaritmicamente a medida que o soluto cobre a superfície do adsorvente, e a superfície de adsorção é heterogênea, onde os sítios de adsorção possuem energias de ligações diferentes (LIN & WU, 2001; DIAS et al., 2001).

O modelo linear e não linear Freundlich estão representados pelas equações 3 e 4, respectivamente, sendo que a variável Q_e é definida como a capacidade de adsorção no equilíbrio em mg g^{-1} , K ($\text{mg g}^{-1}\text{L mg}^{-1}$) é a constante de Freundlich, relacionada com a afinidade dos íons com a superfície, C_e é a concentração no tempo de equilíbrio (mg L^{-1}) e n é a constante característica relacionada a intensidade de adsorção (ANDRADE, 2010; DINIZ, 2013).

$$\log(Q_e) = \log K_1 + \frac{1}{n} \log C_e$$

Equação 3

$$Q_e = KC_e^{1/n}$$

Equação 4

O modelo híbrido de Langmuir-Freundlich apresenta que a superfície do material adsorvente é composta por diferentes sítios de ligações. No modelo híbrido para um sítio (Equação 5), prediz que os sítios são energeticamente homogêneos. Já para o modelo híbrido de dois sítios (Equação 6), também conhecido como modelo duplo de Langmuir-Freundlich, representa que o material adsorvente pode apresentar sítios de ligação heterogêneos na superfície, onde sob baixas concentrações é representado pelo modelo de Freundlich considerando a adsorção em multicamadas, e a altas concentrações considera a existência da

saturação dos sítios de ligação ativos, representados pelo modelo de Langmuir (DINIZ, 2013; OLIVEIRA, 2013).

$$Q_e = \frac{b_1(K_1 C_e)^{n_1}}{1 + (K_1 C_e)^{n_1}}$$

Equação 5

$$Q_e = \frac{b_1(K_1 C_e)^{n_1}}{1 + (K_1 C_e)^{n_1}} + \frac{b_2(K_2 C_e)^{n_2}}{1 + (K_2 C_e)^{n_2}}$$

Equação 6

Onde Q_e representa a quantidade de adsorvato, adsorvido no equilíbrio e b indica a capacidade máxima de adsorção mg g^{-1} , $K_{1,2}$ é a constante para um ou dois sítios de ligação, n o grau de afinidade dado em L g^{-1} e C_e a concentração na fase líquida no equilíbrio (mg L^{-1}) (DINIZ, 2013).

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar um polímero molecularmente impresso com o monômero acrilamida e avaliar o material como adsorvente de glifosato e seu principal produto de degradação, o ácido aminometilfosfônico (AMPA).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os MIPs (*Molecularly Imprinted Polymers*), através da técnica de polimerização em “bulk” utilizando a molécula de glifosato e AMPA como molde, e dos NIPs (*Polymers non-imprinted*) como polímero controle.
- Caracterizar o material sintetizado através de várias técnicas, tais como, a FT-IR, MEV, TG e DTG e a análise elementar.
- Realizar estudo de isotermas de adsorção e parâmetros cinéticos a fim de verificar as interações entre o analito de interesse e a cavidade seletiva dos polímeros.
- Realizar os estudos de impressão dos MIPs a fim de avaliar a seletividade dos materiais sintetizados.

PARTIE
EXPERIMENTAL

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

(A) Os seguintes materiais e equipamentos disponíveis no Laboratório de Estudos de Ciências Ambientais (LECA), localizado no Departamento de Química e Ciências Ambientais do IBILCE/UNESP/SJRP foram necessários para o desenvolvimento do estudo proposto:

- Vidrarias (Laborglas, Brasil), Micropipetas (Eppendorf – Research, Estados Unidos), Sistema de produção de água deionizada Direct-Q® (Merck Millipore®, Billerica, MA, USA), Balança analítica (Shimadzu – AX200, Japão), pHmetro (Marcone, Brasil), Evaporador Rotativo a vácuo (Fisatom, Brasil), Bomba de vácuo (Marcone, Brasil), Balança analítica (Shimadzu – AUW220D, Japão), dry-block (Solab, Brasil).

- O aquecimento do meio reacional para a síntese dos MIP foi realizado em uma chapa de aquecimento Fisatom (Brasil) e a secagem dos polímeros foram feitos em estufa SP-Labor (Brasil).

- O sistema cromatográfico consistiu de um cromatografo líquido de alta eficiência (HPLC) modelo UFLC Prominence LC-20AT, módulo modelo CBM-20A e detector de Fluorescência modelo RF-20AXS (Shimadzu, Japan).

- Para a extração das amostras foram utilizados cartuchos de SPE vazios Supelco (Estados Unidos) e Frits de polietileno da Supelco para o empacotamento dos polímeros. Para auxiliar na extração foi utilizado um sistema a vácuo (*manifold*) com capacidade para 12 cartuchos, (Marca Agilent, Estados Unidos).

(B) As caracterizações morfológicas do MIP foram realizadas no Laboratório do Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley da Universidade Estadual de Londrina por meio das seguintes técnicas:

- Os espectros na região do infravermelho foram obtidos por meio de um espectrômetro de infravermelho modelo FT-IR 8300 (Shimadzu, Japan).

- Microscopia eletrônica de varredura (MEV) usando o microscópio de varredura eletrônica (modelo JEOL – JSM 300-LV, Tokyo, Japan) com voltagem de aceleração de 30 kV.

- Análises térmicas foram realizados usando um analisador termogravimétrico (Perkin Elmer, modelo TGA 4000, Califórnia, USA).

- A análise da área superficial específica (S_{BET}), o volume dos poros e o diâmetro foram realizados a partir Quantachrome Autosorb Automated Gás Sorption, utilizando um instrumento da (Quantachrome Instruments versão 11.0, modelo Nova Station A, Florida, USA).

(C) Análises elementares foram realizadas na Central de Análises Químicas Instrumentais (CAQI), do Instituto de Química de São Carlos (USP), com o auxílio de um analisador elementar CE *Instruments*, modelo EA 1110.

4.2 REAGENTES E SOLUÇÕES

Para a quantificação do glifosato e AMPA os reagentes utilizados foram de alta pureza (Sigma-Aldrich e Fluka) e as soluções estoques foram preparadas em água ultrapura.

Para a síntese dos MIPs utilizou-se padrões de glifosato e AMPA (99%) Sigma-Aldrich (EUA). O etilenoglicoldimetacrilato (EGDMA) e o 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila (AIBN) foram da marca Sigma-Aldrich (EUA) e a acrilamida (AAm) da Fluka (EUA).

Os reagentes cloreto de fluorenilmetilcloroformato (FMOC-Cl), tetraborato de sódio, metanol (MeOH), hidróxido de potássio e hidrogenofosfato de potássio foram obtidos da Sigma-Aldrich. Os reagentes éter dietílico e ácido acético (HAc) foram adquiridos da Synth e a acetonitrila (ACN) grau HPLC da Tédia.

Para a derivatização do glifosato e AMPA foram utilizadas soluções tampão de tetraborato de sódio ($B_4Na_2O_7 \cdot 10H_2O$) $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e solução de FMOC-Cl 1 g L^{-1} .

4.3 PREPARAÇÃO DOS POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSOS

4.3.1 Síntese dos MIPs

O procedimento de polimerização em “bulk” foi escolhido para o preparo dos MIPs. A síntese do MIP consistiu de três sínteses para o *template* glifosato e uma síntese para o *template* AMPA. Foram feitos vários testes de solubilidade do *template* glifosato em diferentes solventes orgânicos, devido sua baixa solubilidade em solvente orgânico e sua alta solubilidade em água, tais como: tetraidrofurano, acetona, ACN, MeOH, clorofórmio, MeOH: clorofórmio, DMSO: MeOH, DMSO: clorofórmio. Realizou-se a partir das solubilizações

obtidas as sínteses dos MIPs com as misturas de solvente que se mostraram mais adequadas, a saber:

Procedimento MIP-GF. 0,59 mmol de glifosato foi utilizado, dissolvido em 30,0 mL da mistura (1:1) DMSO: clorofórmio. Manteve-se a agitação no banho de ultrassom por 20 minutos para que todo o template fosse solubilizado. Em seguida, adicionou-se 35,18 mmol do monômero ligante, AAm, e agitou-se manualmente por 5 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,05 mmol do RLC, EGDMA, 1,83 mmol do iniciador radicalar, AIBN, em frascos de vidros reacionais de 200,0 mL, onde borbulhou-se nitrogênio por 10 minutos, selou-se o frasco e colocou em banho de óleo por 24 horas a 60°C.

Procedimento MIP-M. Realizou-se todo o procedimento descrito anteriormente, porém alterou o solvente de solubilização do template, onde inicialmente adicionou-se 10,0 mL de água ultrapura, e colocou-se no banho de ultrassom por 30 minutos. Após total solubilização do analito, adicionou-se 20,0 mL de MeOH e agitou-se manualmente por 5 minutos. Procedeu-se com a síntese da mesma forma que a anterior.

Procedimento MIP-A. Já neste procedimento, após a solubilização do glifosato em 10,0 mL de água ultrapura com o auxílio do banho ultrassom por 30 minutos, adicionou-se 20,0 mL de ACN. Alterou-se a quantidade de monômero AAm e de RLC, sendo utilizado respectivamente 49,24 mmol e 0,08 mmol, a fim de testar a melhor síntese de polimerização para o *template* glifosato.

Procedimento MIP-AMPA. Realizou-se o mesmo procedimento de síntese do MIP-A para a síntese do *template* AMPA, alterando somente a molécula molde para o analito AMPA, já que o analito apresentou-se completamente solúvel a mistura de solvente ACN: água ultrapura (2:1 v/v), não necessitando realizar outras sínteses.

Tabela 1 Quantidade de reagentes empregados na síntese dos polímeros.

Polímero	GF (mmol)	AMPA (mmol)	H ₂ O (mL)	ACN (mL)	DMSO (mL)	CHCl ₃ (mL)	MeOH (mL)	AAm (mmol)	AIBN (mmol)	EGDMA (mmol)
MIP-GF	0,59	—	—	—	15	15	—	35,18	1,83	0,05
MIP-M	0,59	—	10	—	—	—	20	35,18	1,83	0,05
MIP-A	0,59	—	10	20	—	—	—	49,24	1,83	0,08
MIP-AMPA	—	0,9	10	20	—	—	—	49,24	1,83	0,08

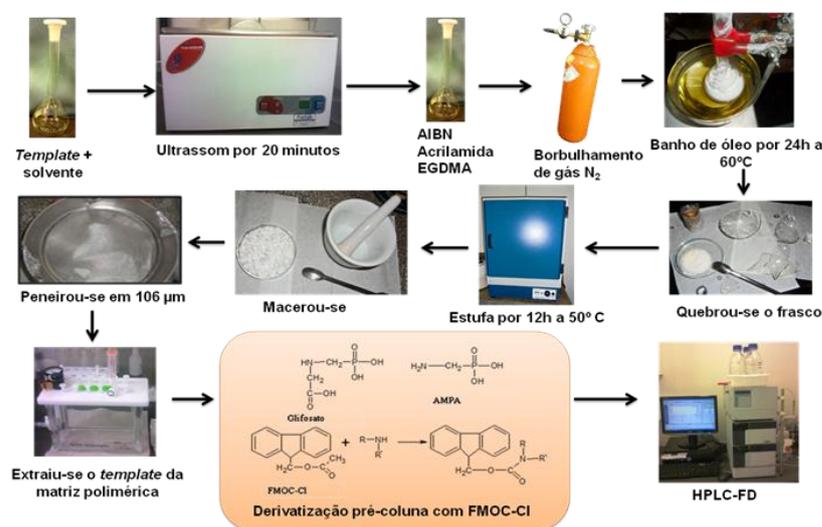
GF: glifosato, H₂O: água ultrapura; ACN: acetonitrila; DMSO: dimetilsulfóxido; CHCl₃: clorofórmio; MeOH: Metanol; AAm: acrilamida; EGDMA: etileno glicoldimetacrilato; MIP-GF: polímero de impressão

molecular do glifosato sintetizado em DMSO: CHCl_3 ; MIP-M: Polímero de impressão molecular do glifosato sintetizado em MeOH: H_2O ; MIP-A: Polímero de impressão molecular do glifosato sintetizado em ACN: H_2O ; MIP-AMPA: Polímero de impressão molecular do AMPA sintetizado em ACN: H_2O .

Os polímeros resultantes foram secos em estufa a 50°C por 12 horas, triturados, e passados na peneira de $106\ \mu\text{m}$ e, posteriormente, lavados com a mistura MeOH: HAc (4:1 v/v) utilizando dois sistemas de extração (ver seção 4.3.3).

Para ilustrar o procedimento de síntese dos polímeros impressos, segue um esquema geral que está ilustrado na Figura 2.

Figura 2 Esquema geral da síntese do MIP.



Fonte: Arquivo Pessoal

4.3.2 Síntese dos NIPs

Após a realização dos testes prévios de adsorção para a escolha do polímero que apresenta melhor capacidade adsortiva, realizou-se o procedimento de síntese dos NIPs dos respectivos analitos de interesse, conforme procedimento descritivo abaixo.

Síntese do NIP-GF: adicionou-se 30 mL da mistura DMSO: clorofórmio (1:1 v/v) e agitou-se no banho de ultrassom por 20 minutos. Em seguida adicionou-se 35,18 mmol do monômero acrilamida e agitou-se manualmente por 5 minutos. Na sequência, foram adicionados 0,05 mmol do EGDMA e 1,83 mmol de AIBN, foi borbulhado nitrogênio por 10 minutos, lacrou-se o frasco e deixou em banho de óleo por 24 horas a 60°C .

Síntese do NIP-AMPA: adicionou-se 10 mL de água ultrapura, colocou-se em banho de ultrassom por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 20 mL de ACN e agitou manualmente

por 5 minutos. Na sequência foi adicionado 49,24 mmol do monômero acrilamida e 0,08 mmol do EGDMA. Ainda foi adicionado nessa mistura 1,83 mmol do AIBN. Borbulhou nitrogênio por 10 minutos, selou-se o frasco e colocou em banho de óleo por 24 horas a 60°C.

Os polímeros foram secos em estufa a 50°C por 12 horas. Em seguida, o material foi macerado em almofariz com pistilo e passados em peneira de 106 µm.

Tabela 2 Quantidade de reagentes empregados na síntese dos polímeros

Polímero	GF (mmol)	AMPA (mmol)	H ₂ O (mL)	ACN (mL)	DMSO (mL)	CHCl ₃ (mL)	AAM (mmol)	AIBN (mmol)	EGDMA (mmol)
NIP-GF	—	—	—	—	15	15	35,18	1,83	0,05
NIP-AMPA	—	—	10	20	—	—	49,24	1,83	0,08

GF: glifosato, H₂O: água ultrapura; ACN: acetonitrila; DMSO: dimetilsulfóxido; CHCl₃: clorofórmio; AAM: acrilamida; EGDMA: etileno glicoldimetacrilato; NIP-GF: polímero não-impresso controle do MIP-GF sintetizado em DMSO: CHCl₃; NIP-AMPA: polímero não-impresso controle do MIP-AMPA sintetizado em ACN: H₂O.

4.3.3 Extrações do *template* das matrizes poliméricas (MIPs)

Para extração do *template* da matriz polimérica (MIP), primeiramente foram realizadas extrações utilizando-se sistema de extração sólido-líquido Soxhlet. Para isto, foi adicionada uma massa de 1,0 g de MIP contendo o *template* glifosato e/ou o *template* AMPA envolvido em um papel de filtro e o mesmo foi colocado dentro do *thimble* para iniciar então o processo de extração. O solvente utilizado para extração foi uma solução de MeOH: HAc, na proporção 4:1 v/v em um volume de 140,0 mL, sendo que o processo de extração decorreu em um período de 48 horas.

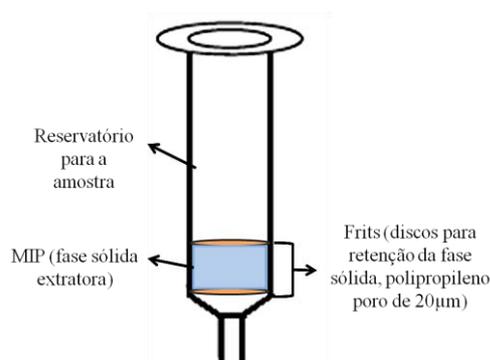
Para quantificar o glifosato e o AMPA extraído dos MIPs, o líquido obtido no final da extração soxhlet foi submetido a um processo de secagem utilizando evaporador rotativo a vácuo, onde a amostra ficou rotacionando em banho-maria a uma temperatura de 50°C até a secura. A amostra foi então ressuspensa no balão de fundo redondo com um volume de 3,0 mL de água ultrapura e procedeu a derivatização, ver item 4.9, e quantificação via HPLC-FD. Para a remoção completa do glifosato e do AMPA dos MIPs foi necessário, além do processo de extração por soxhlet, fazer a eluição de 15 frações de 10,0 mL de MeOH: HAc 4:1 v/v. O volume eluído foi seco sob fluxo de nitrogênio e aquecimento de 50°C em um sistema Dry-

block. A amostra foi então ressuspensa em 3,0 mL de água e realizou-se procedimento descrito no item 4.9 para quantificação via HPLC-FD.

4.4 TESTES DA CAPACIDADE DE ADSORÇÃO

A fim de avaliar qual polímero sintetizado para o *template* glifosato (ver procedimentos de síntese no item 4.3.1) apresenta melhor capacidade de adsorver o analito de interesse e a capacidade adsortiva do MIP sintetizado para o *template* AMPA, foi realizado um teste de recuperação para uma solução de água ultrapura contendo 600 ng L⁻¹ de padrão de glifosato e outra solução contendo 600 ng L⁻¹ de padrão de AMPA. Os polímeros foram empacotados em cartuchos vazios de SPE de 6,0 mL da marca Supelco, onde foram colocados 500 mg de cada polímero limpos entre Frits (Figura 3).

Figura 3 Esquema da montagem dos cartuchos contendo o MIP.



Fonte: Adaptado MARTINS, 2013

O experimento consistiu de 500 mL de solução padrão para cada polímero a ser testado, das quais foram preparadas soluções contendo somente água ultrapura (branco para cada polímero em questão), e as outras, continham solução padrão de glifosato para análise do MIP-GF e solução padrão de AMPA para análise do polímero MIP-AMPA, ambas na concentração de 600 ng L⁻¹ em água ultrapura. Estas soluções foram então percoladas pelos MIPs limpos, em um fluxo controlado com o auxílio do sistema de *manifold* sob vácuo (Figura 4).

Figura 4 Esquema da extração da amostra em frasco âmbar com o cartucho de MISPE

Fonte: Adaptado MARTINS, 2013.

Depois de feita a extração, os analitos foram eluídos com 50,0 mL da solução de MeOH: HAc (4:1 v/v), o volume foi seco sob fluxo de N₂, e ressuspendido com 3,0 mL de água ultrapura, em seguida realizou-se o procedimento de derivatização (seção 4.9) e quantificação por meio da técnica de HPLC-FD. Como as soluções padrões partiram de um volume inicial de 500,0 mL e resultou-se em um volume final de 3,0 mL, houve uma concentração de aproximadamente 167 vezes da concentração inicial, sendo que a concentração final esperada seja de 100 µg L⁻¹.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS MIPs E DOS NIPs

A fim de obter maiores informações sobre os polímeros sintetizados para ambas as moléculas moldes, bem como, para compará-los com seus materiais controle, NIPs, foram realizados diversos análises que caracterizam morfologicamente e estruturalmente os materiais obtidos. Dentre as técnicas utilizadas, podemos citar a espectrometria de infravermelho, a microscopia eletrônica de varredura, a análises elementares e por fim, as análises termogravimétricas.

4.5.1 Medidas de infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos por meio de um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier modelo Shimadzu IR- FT 8300, operando no modo de transmissão entre 4000 e 400 cm⁻¹ e as pastilhas foram feitas de KBr.

4.5.2 Medidas de microscopia eletrônica de varredura

Realizou-se a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar as características morfológicas das partículas e suas respectivas superfícies dos MIPs, como também dos NIPs. A morfologia dos polímeros foram avaliadas a partir da MEV usando o microscópio de varredura eletrônica (modelo JEOL – JSM 300-LV, Tokyo, Japão) com voltagem de aceleração de 30 kV. Para realização desta análise as amostras foram montadas em suportes de alumínio "*stubs*", com o auxílio de fita adesiva de carbono dupla face, sendo cinco com a face inferior do limbo voltada para cima e cinco para baixo. Em seguida foram cobertos com ouro e observados em MEV.

4.5.3 Medidas de área superficial específica (SBET)

Foram realizadas as medidas de área superficial a fim de obter a extensão da superfície dos MIPs sintetizados para o glifosato e AMPA. Empregou-se nestas análises um método que baseia-se na determinação do volume de nitrogênio adsorvido a pressões diversas na temperatura do nitrogênio líquido. Para realização das análises de área superficial (S_{BET}) utilizou-se um medidor da Quantachrome Autosorb Automated Gás Sorption (Quantachrome Instruments versão 11.0, modelo Nova Station A, Florida, USA).

4.5.4 Medidas de volume específico dos poros e diâmetro médio dos poros

Para a determinação do volume específico dos poros e o diâmetro médio dos mesmos utilizou-se também de um Quantachrome Autosorb Automated Gás Sorption. Onde, os dados são fornecidos diretamente através de um microcomputador que se encontra interfaciado ao equipamento.

4.5.5 Análise Elementar

As determinações da composição elementar foram realizadas pela Central de Análises Químicas Instrumentais (CAQI), do Instituto de Química de São Carlos, com o auxílio de um analisador elementar CE Instruments, modelo EA 1110. Para isso, as amostras após serem retiradas a moléculas molde foram então secas em estufa a 50 °C. Como elas já haviam sido

maceradas em almofariz após a síntese não houve necessidade de repetir a operação, e então foram armazenadas em frascos de vidro a temperatura ambiente até o momento das análises.

4.5.6 Medidas termogravimétricas

Foram realizadas as análises termogravimétricas dos MIPs a fim de avaliar as respectivas estabilidades térmicas. Para isso, foi usado um analisador termogravimétrico (Perkin Elmer, modelo TGA 4000, California, USA), onde, através de uma micro-balança, foi possível determinar a porcentagem de perda de massa da amostra com o aumento da temperatura. As análises foram realizadas com fluxo de nitrogênio 40 mL min⁻¹, qual a temperatura foi variada de 30°C até 900°C com uma taxa de variação de 10°C min⁻¹. Os gráficos obtidos estão representados no item 5.3.4.

4.6 MODELOS CINÉTICOS

A fim de verificar o mecanismo e a etapa limitante em cada processo adsorptivo específico, diversos modelos cinéticos foram empregados para descrever a adsorção de cada adsorvato sobre os adsorventes. Dentre os modelos que foram estudados, podemos citar, cinética pseudo-primeira ordem, cinética pseudo-segunda ordem, equação de Elovich e difusão intrapartícula.

4.6.1 Cinética de Pseudo-primeira ordem

O modelo de pseudo-primeira-ordem é uma análise simples de cinética de adsorção, onde o adsorvato se liga a um único sítio ativo na superfície do adsorvente, como demonstrado na Equação 7 (Karaday et al., 2006).

$$\log(Q_e - Q_t) = \log Q_e - \frac{K_1}{2,303} t$$

Equação 7

Onde, a constante da taxa de adsorção do modelo pseudo-primeira-ordem (min⁻¹) é representada por k_1 , Q_e e Q_t , a qual representa a quantidade adsorvida do analito (mg g⁻¹) no equilíbrio e no instante de tempo t , respectivamente. Para obter a cinética de adsorção pseudo-

primeira-ordem constroeu-se um gráfico de $\log(Q_e - Q_t)$ versus t , sendo que o valor obtido através do coeficiente angular do gráfico representa o valor da constante da taxa de adsorção k_1 (KARADAY et al., 2006; OLIVEIRA, 2013).

4.6.2 Cinética de Pseudo-segunda ordem

Para o modelo de pseudo-segunda ordem no processo de adsorção, o adsorvato se liga a dois sítios ativos da superfície do adsorvente. A Equação 8 demonstra o cálculo do modelo de pseudo-segunda-ordem (KARADAY et al., 2006).

$$\frac{1}{Q_t} = \frac{1}{K_2 Q_e^2} + \frac{1}{Q_e} t$$

Equação 8

Onde, k_2 é a constante da taxa de adsorção de pseudo – segunda – ordem (min g mg^{-1}), Q_e é a quantidade de adsorvato adsorvida no equilíbrio (mg g^{-1}) e Q_t é a quantidade adsorvida no instante t . Construindo o gráfico t/Q_t versus t obtém os valores de Q_e , e interceptando-se o gráfico pode-se calcular k_2 (KARADAY et al., 2006; DEBRASSI et al., 2011).

4.6.3 Modelo Equação de Elovich

Este modelo cinético representa sistemas cujas superfícies de adsorção são heterogêneas (DEBRASSI et al., 2011). A equação que demonstra este modelo está representada na Equação 9.

$$Q_t = \beta(\ln \alpha \beta) + \beta(\ln t)$$

Equação 9

Onde, β é a constante de dessorção (g mg^{-1}), a qual indica o número de sítios adequados para a adsorção em cada sistema, e também é relatada como a extensão da cobertura da superfície de energia de ativação para quimissorção; α é a velocidade inicial de adsorção ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$); Q_t é a quantidade adsorvida (mg g^{-1}) no tempo t (min) (DEBRASSI et al., 2011).

4.6.4 Modelo difusão intrapartícula

O modelo cinético difusão intrapartícula identifica um possível mecanismo de difusão intrapartícula como etapa limitante (DEBRASSI *et al.*, 2011). Este modelo está representado pela Equação 10.

$$Q_t = K_p t^{1/2} + C$$

Equação 10

Sendo, K_p é a constante de difusão intrapartícula ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$), C é uma constante relacionada com a resistência á difusão (mg g^{-1}) e Q_t é a quantidade adsorvida (mg g^{-1}) no tempo t (min) (DEBRASSI *et al.*, 2011).

4.7 CONSTRUÇÕES DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Adsorção é a aderência à superfície de um sólido de um componente presente em um gás ou líquido. O procedimento de análise das isotermas de adsorção foi feito de acordo com Andrade, 2010, onde o método em batelada é usado em uma faixa de concentração até a obtenção da concentração de equilíbrio.

Para isto foram colocados em uma série de frascos de vidro uma quantidade de 100 mg do polímero, onde esta massa foi suspensa em 25,0 mL de solução padrão de cada analito em seu respectivo polímero. Para o polímero MIP-GF a concentração variou de 2,0 a 30,0 mg L^{-1} , já para o MIP-AMPA a concentração inicial da solução teve uma variação de 2,0 a 54,0 mg L^{-1} . O pH foi mantido constante em 6,5 em tampão tetraborato 0,05 mol L^{-1} e o tempo de agitação foi de 240 minutos para ambos os polímeros.

Os valores de pH e tempo de agitação foram obtidos em experimentos univariados e em batelada, como descritos na seção 4.7.1. Após agitadas as suspensões foram separadas por centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos. Os analitos presentes na solução inicial e no sobrenadante após a agitação foram quantificados utilizando-se a técnica de HPLC-FD com derivatização pré-coluna. A quantidade dos analitos adsorvidos nos MIPs foram determinados por meio da diferença entre a concentração inicial e a concentração encontrada no sobrenadante.

4.7.1 Otimização do pH e do tempo de agitação

Para construção das isothermas de adsorção, são necessários à otimização de dois importantes parâmetros, tais como: o pH ótimo de adsorção e o tempo de agitação. Os valores para os dois parâmetros foram obtidos a partir de experimentos em bateladas, sendo todos eles feitos em duplicata.

Os experimentos para determinar o pH ótimo de adsorção para cada polímero, foram realizados em frascos de vidros contendo 100 mg do material adsorvente. Foram suspensos 25,0 mL de solução dos analitos, AMPA e glifosato para cada MIP, na concentração de 1,0 mg L⁻¹ e variando a faixa de pH de 2,5 a 9,5. As suspensões foram agitadas por 30 minutos a temperatura ambiente (25°C) em uma mesa agitadora à 200 rpm.

Para determinação do tempo de agitação de equilíbrio foram colocados em frascos de vidro 100 mg do material adsorvente, aos quais foram suspensos em 25 mL de solução de AMPA e/ou glifosato na concentração de 1,0 mg L⁻¹. As suspensões foram agitadas em tempos diferentes a temperatura ambiente (25°C) em uma mesa agitadora à 200 rpm. Os tempos de agitação utilizados foram variados na faixa de 5 a 270 minutos.

Para ambos os experimentos, em seguida, as suspensões foram separadas por centrifugação a 3000 rpm por 10 min. Uma alíquota dos sobrenadantes foram derivatizadas (seção 4.9) e quantificadas. A quantidade de AMPA e de glifosato adsorvido no material foi determinada pela diferença entre a concentração inicial e a concentração encontrada no sobrenadante, como segue na Equação 11 (Pereira, 2008).

$$Ad = I - F$$

Equação 11

Onde: Ad é a quantidade de glifosato e/ou AMPA adsorvido pelo polímero (mg L⁻¹); I é a concentração inicial da solução, no caso 1,0 mg L⁻¹ e F é a concentração de analito livre no sobrenadante (mg L⁻¹)

A porcentagem de glifosato e/ou AMPA adsorvida no MIP foi determinada através da equação 12 (Pereira, 2008).

$$P(\%) = \left(\frac{Ad}{I} \right) \times 100$$

Equação 12

Onde, Ad é a quantidade de glifosato e/ou AMPA adsorvido pelo polímero (mg L⁻¹) e $P(\%)$ é a porcentagem de glifosato e/ou AMPA adsorvido no MIP-GF e/ou MIP-AMPA.

4.8 ESTUDOS DE IMPRESSÃO DOS MIPs

Para avaliar o efeito de impressão dos MIPs em relação ao analito alvo foram realizados estudos de adsorção de soluções binárias glifosato/AMPA no MIP-GF e NIP-GF, bem como de soluções binárias de glifosato/AMPA no MIP-AMPA e NIP-AMPA. Ambos os analitos foram escolhidos por apresentarem estruturas semelhantes e por apresentar a mesma forma de preparação da amostra e quantificação via HPLC-FD.

Estes experimentos foram realizados a temperatura ambiente, onde 100 mg de cada polímero foram colocados em frascos de vidro com tampa e agitados durante 30 minutos com 25 mL de uma solução binária contendo 1 mg L^{-1} de cada analito em pH 6,5 com solução fosfato $0,05\text{ mol.L}^{-1}$. Após esta etapa, o sobrenadante foi coletado, a amostra foi derivatizada e a quantidade de glifosato e/ou AMPA foi detectado por HPLC-FD.

Com base nestes experimentos, foram determinados os parâmetros relacionados ao desempenho da seletividade do adsorvente, tais como coeficiente de distribuição (K_d), coeficiente de seletividade (k) e coeficiente de seletividade relativo (k'). O coeficiente de distribuição do analito e interferente foram calculados a partir da Equação 13 (ANDRADE, 2010).

$$K_d = \left[\frac{(C_i - C_f)}{C_f} \right] \times \frac{V_s(\text{mL})}{\text{massa do MIP (g)}}$$

Equação 13

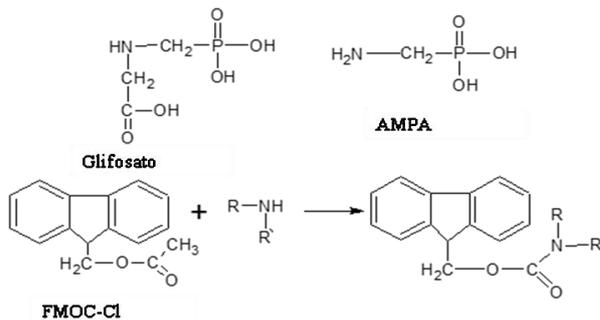
Onde C_i , C_f e V_s representam a concentração inicial, final e o volume da solução, respectivamente. O coeficiente de seletividade é definido como a relação entre o coeficiente de distribuição para os analitos e o coeficiente de distribuição para os interferentes. Para fazer a comparação dos valores de k entre o polímero impresso e o polímero controle, ou seja, o coeficiente de seletividade relativo (k'), a seguinte equação 14 foi empregada. Esta equação permite uma estimativa do efeito da impressão na seletividade (ANDRADE, 2010).

$$k' = \frac{K_{\text{Impresso}}}{K_{\text{Sem impressão}}}$$

Equação 14

4.9 DERIVATIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÕES DE GLIFOSATO E AMPA POR HPLC-FD

Para a quantificação de glifosato e de AMPA foi necessário efetuar o procedimento de derivatização dos mesmos com o auxílio do reagente derivatizante FMOC-Cl, seguindo as recomendações de FUR, *et. al.*, 2000. Na Equação 15 estão representadas as estruturas químicas de glifosato e de seu produto de degradação, AMPA, e a reação de derivatização com FMOC-Cl. R: H ou um grupo alquila (IBÁÑEZ *et al.*, 2005).



Equação 15

i) Limpeza vidrarias

Todas as vidrarias foram lavadas com solução de extran 5% e enxaguadas com água abundante da torneira, posteriormente lavou-se três vezes com água ultrapura, deixou-se secar a temperatura ambiente e passou-se MeOH grau HPLC, deixando-se na capela forrada com papel alumínio até completa secura. Para as vidrarias utilizadas dos sistemas de Soxhlet e evaporador rotativo, depois de passar água ultrapura e seca elas foram levadas à mufla a 400°C por 4 horas, depois de resfriar, e lavou-se com MeOH grau HPLC.

ii) Curva Analítica

A curva analítica para quantificação de glifosato e do AMPA foram feitas a partir de uma solução estoque de padrão misto de concentração igual a 1 mg L⁻¹. Para construção da curva analítica e para verificar a linearidade do método foram injetadas concentrações crescentes dos analitos a partir de padrões mistos de concentrações de 10, 20, 40, 60 e 80 20 µg L⁻¹, derivatizadas conforme *item iii*. Sendo o volume injetado no HPLC de 20 µL⁻¹.

iii) Procedimento de derivatização

Para a determinação do glifosato e AMPA por HPLC-FD, primeiramente procedeu-se a derivatização. O procedimento consiste da adição de 500 μL do tampão tetraborato 0,05 mol L^{-1} , 500 μL da solução de FMOC-Cl 1,0 g L^{-1} e 500 μL de ACN em 3,0 mL da solução padrão estoque em um frasco de vidro com tampa. Deixou-se reagir por 30 minutos à temperatura ambiente, e depois se pipetou 4500 μL de uma solução de éter dietílico. Após, transcorrido o tempo de uma hora é feita a separação da fase aquosa com o auxílio de um funil de separação e procede a filtração em filtros Millipore 0,45 μm imediatamente antes à injeção no HPLC-FD.

iv) Condições instrumentais

A quantificação de glifosato e de seu produto de degradação, AMPA, nas matrizes poliméricas (MIP) após o procedimento de extração foram obtidas com o auxílio de um HPLC-FD após o procedimento de derivatização pré-coluna. As separações foram realizadas em coluna de fase reversa C-18 (0,46 mm i.d. x 15 cm e 5 μm de diâmetro de partícula, Phenomenex, Estados Unidos) a uma vazão de 0,5 mL min^{-1} sob condições isocráticas a temperatura ambiente. O software LCsolution foi utilizado para adquirir e processar os dados cromatográficos. Para a quantificação do glifosato e AMPA, o detector RF-20AXS foi operado nos comprimentos de ondas de excitação e emissão em 260 e 310 nm, respectivamente. Os parâmetros utilizados para a análises foram seguidos segundo o autor Fur e colaboradores (2006). O tempo de corrida cromatográfica foi de 30 minutos.

A fase móvel empregada foi uma mistura de solução tampão de fosfato monobásico 0,03 mol L^{-1} de hidrogenosfosfato de potássio (KH_2PO_4) pH 5,75 na proporção de 55% (linha A) e ACN 45% (linha B). A fase móvel de solução tampão fosfato monobásico foi filtrada em filtro de acetato de celulose 0,45 μm através de um sistema de filtração de solvente de vidro da Millipore. As fases móveis foram desgasificada em ultrassom, sendo o fluxo do solvente de 0,5 mL min^{-1} e o modo isocrático.

v) Cálculo dos limites

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração do analito presente em uma determinada amostra que pode ser detectado, porém que não pode ser quantificado. Já o limite

de quantificação (LQ) é a menor concentração da amostra que pode ser quantificada pela técnica empregada, as quais podem ser feitas comparações com outros resultados obtidos (INMETRO, 2010).

Existem três maneiras para determinar os LD e LQ, aos quais podemos citar o método visual, o método da relação sinal-ruído e o método baseado em parâmetros da curva analítica. Onde o método da relação sinal ruído é aplicável somente a procedimentos analíticos que apresentam ruído em sua linha de base, porém para análises cromatográficas e eletroanalíticas estas respostas podem ser subjetivas. O método baseado nos parâmetros da curva analítica leva em consideração o desvio padrão da resposta (s), que pode ser o desvio padrão do branco da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação ou o coeficiente angular da curva analítica que é representado na equação por S . Nas Equações 16 e 17 estão representados os LD e LQ respectivamente (RIBANI, *et al.*, 2004).

$$LD = 3,3x \frac{s}{S}$$

Equação 16

$$LD = 10x \frac{s}{S}$$

Equação 17

O método utilizado para determinação dos limites foi o método visual, em que é necessário fazer adição de padrões em uma amostra em branco (“*spikes*”) em replicatas para que seja possível a determinação dos LD e LQ, já que em métodos cromatográficos não apresentam respostas nas provas em branco. Para a determinação dos limites baseou-se nos calculos do desvio padrão, onde utiliza-se a relação 3:1 para determinação do LD e a relação 10:1 para determinação do LQ (LANÇAS, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESES DOS POLÍMEROS COM IMPRESSÃO MOLECULAR

O método utilizado para a síntese do material impresso foi a polimerização em “bulk” pela sua simplicidade. O monômero utilizado para síntese do polímero foi a acrilamida, Figura 5, devido a possibilidade de estabelecer uma ligação de hidrogênio com o analito, glifosato e AMPA (Figura 6), e formar uma espécie de complexo estável.

Figura 5 Estrutura da acrilamida (AAm)

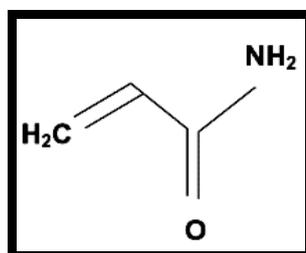
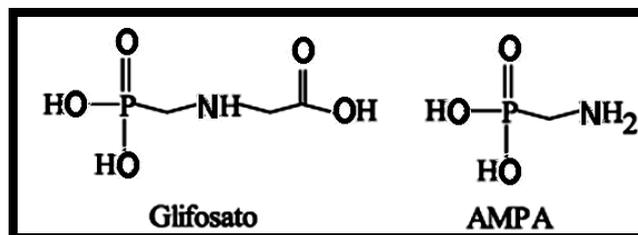


Figura 6 Estrutura do glifosato e do AMPA



O solvente é outro importante parâmetro que influencia na estabilidade da formação do complexo “analito-monômero” (TARLEY *et al.*, 2005^a). Para síntese do MIP foram feitos vários testes de solubilização do glifosato e do AMPA em solvente orgânicos. Dentre eles, podem ser citados: tetrahidrofurano, acetona, ACN, MeOH, clorofórmio, soluções de MeOH: clorofórmio, soluções de DMSO: MeOH em diferentes proporções (1:1 v/v; 2:1 v/v e 1:2 v/v). Para todos os solventes e soluções, o glifosato e o AMPA apresentaram-se insolúvel ou pouco solúvel.

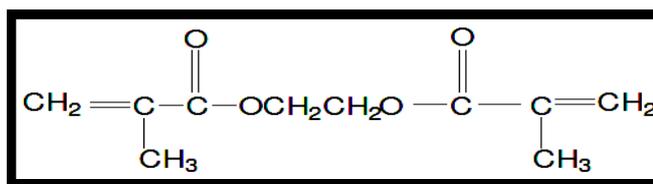
A solubilização do glifosato foi obtida em soluções de DMSO: clorofórmio (1:1 v/v), MeOH: água ultrapura e ACN: água ultrapura nas proporções 2:1 v/v, e foram sintetizados três MIPs com as diferentes misturas de solvente citadas. A saber, que o DMSO: clorofórmio (1:1 v/v) apresentou uma polimerização rápida, em torno de 30 minutos, MeOH :água ultrapura: (2:1 v/v), apresentando-se inicialmente um aspecto gelatinoso e a última síntese

com ACN: água ultrapura (2:1 v/v) não apresentou características significativas durante a síntese.

Para o AMPA ocorreu solubilização mais rápida com ACN: água ultrapura nas proporções 2:1 v/v, com isso foi feita somente uma síntese. Essa solubilização ocorreu para ambos através da utilização de um aparelho de ultrassom.

O EGDMA (Figura 7) utilizado como reagente de ligação cruzada (RLC), tem como característica a formação de polímeros termicamente e mecanicamente estáveis e com rápida transferência de massa. A quantidade de monômero e de RLC para síntese do MIP-AMPA foi alterada de 0,05 para 0,08 mmol a fim de obter um polímero mais rígido e estável, decorrente da utilização de água como solvente durante a síntese (TARLEY *et al.*, 2005^a; SPIVAK, 2005).

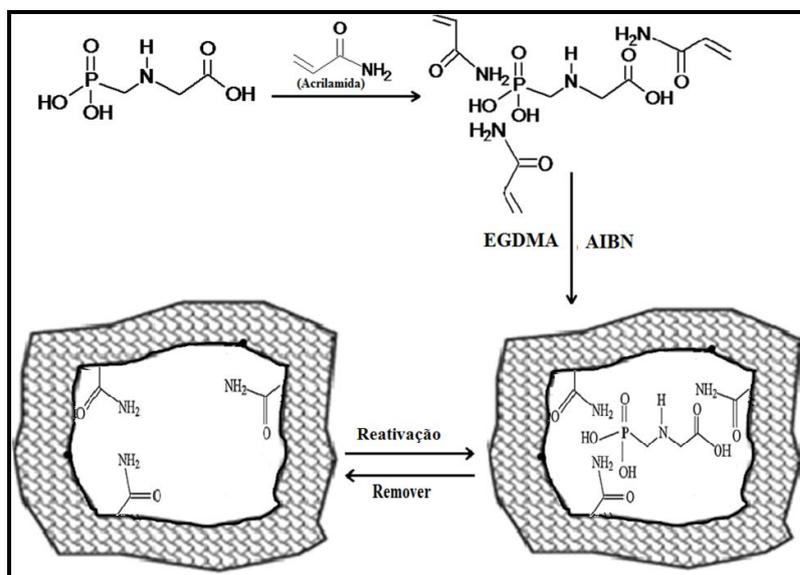
Figura 7 Estrutura do etileno glicoldimetacrilato (EGDMA)



Fonte: PEREIRA, 2008

Na Figura 8 está representada de forma esquemática a síntese do polímero de impressão molecular para a *template* glifosato. Para a molécula molde AMPA, o procedimento de síntese ocorre de forma similar.

Figura 8 A representação esquemática da impressão e a remoção de glifosato a partir dos polímeros molecularmente impressos



Fonte: Adaptado de ZHAO *et. al.*, 2011

5.1.1 Extração do *template* da matriz polimérica

Para a extração do *template* da matriz polimérica foram testados dois métodos, um com sistema de extração de Soxhlet com MeOH:HAc (4:1 v/v) seguido da extração com *manifold* empregando a mesma mistura de solvente. Já o outro método consistiu somente da extração com *manifold* empregando sucessivas lavagens com a mistura de solventes MeOH:HAc (4:1 v/v).

O método de extração utilizando o sistema de soxhlet, juntamente com o sistema de extração *manifold* foi o que apresentou melhor resultado, quando comparado com a extração utilizando somente o método de lavagens sucessivas através do *manifold*. Deste modo, a remoção da molécula molde dos polímeros foi realizada com a solução de MeOH: HAc na proporção 4:1 v/v utilizando inicialmente sistema de extração soxhlet por 24 horas, seguido de sucessivas lavagens (15 ao todo) com 10 mL do mesmo solvente empregando um sistema *manifold* até total remoção do *template*. Sendo assim, as extrações dos *templates* das matrizes polimérica dos quatro polímeros sintetizados foram realizadas empregando esse procedimento para que o mesmo dispusesse de microcavidades com tamanhos uniformes capazes de reter seletivamente a molécula molde presentes numa amostra complexa.

5.2 TESTES DE ADSORÇÃO

Realizou-se um teste de adsorção com os polímeros sintetizados a fim de obter qual material apresentava maior capacidade adsorvente, e, portanto seria o mais adequado para o estudo como adsorvente seletivo para o glifosato e AMPA. A partir destes resultados realizou-se a síntese dos seus respectivos polímeros controles, NIPs, nas mesmas condições da síntese do MIPs. As condições para este estudo estão apresentadas na Tabela 3.

No apêndice estão apresentados os cromatogramas (Figura 45 a 48) obtidos para cada polímero sintetizado a partir da técnica de HPLC-FD, onde apresentam os respectivos tempos de retenção *versus* intensidade gerada pelo analito após o procedimento de derivatização com FMOC-Cl.

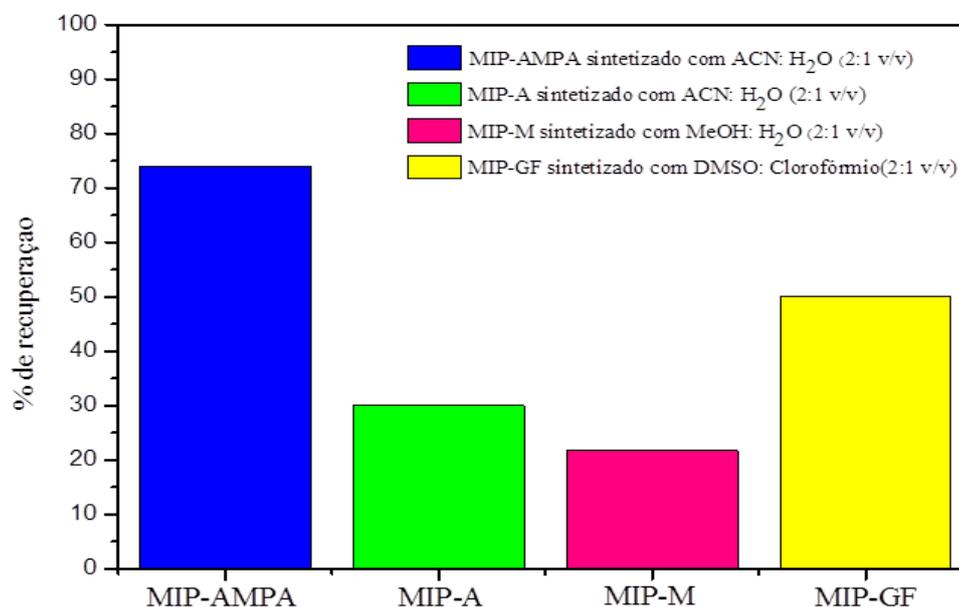
Tabela 3 Teste de adsorção realizado nos polímeros sintetizados com diferentes solventes.

Amostras de MIPs	C_i (ng L ⁻¹)	C_{FT} (ug L ⁻¹)	Área (x10 ⁶)	C_{FE} (ug L ⁻¹)	P _R %	V _A (mL)
MIP-AMPA	600	100	11,43	73,99	74,0	500
MIP-A	600	100	2,20	30,00	30,1	500
MIP-M	600	100	1,59	21,72	21,7	500
MIP-GF	600	100	3,65	50,08	50,1	500

Onde: C_i concentração inicial da amostra, C_{FT} é a concentração final teórica, Área é o valor obtido a partir da integração do pico cromatográfico de interesse, C_{FE} é a concentração final experimental, P_R% é a porcentagem de recuperação da amostra após a extração e V_A é o volume inicial da amostra.

Como pode ser observado através da Figura 9, o MIP-GF sintetizado com os solventes DMSO: clorofórmio (1:1 v/v) foi o que apresentou melhor porcentagem de recuperação do analito, quando comparado com os outros polímeros, cerca de 50%, ou seja, resultou em uma melhor capacidade adsorvente, e para o MIP-AMPA a recuperação foi de aproximadamente 73%.

Figura 9 Representação gráfica da porcentagem de recuperação de glifosato e AMPA a partir do procedimento de extração.

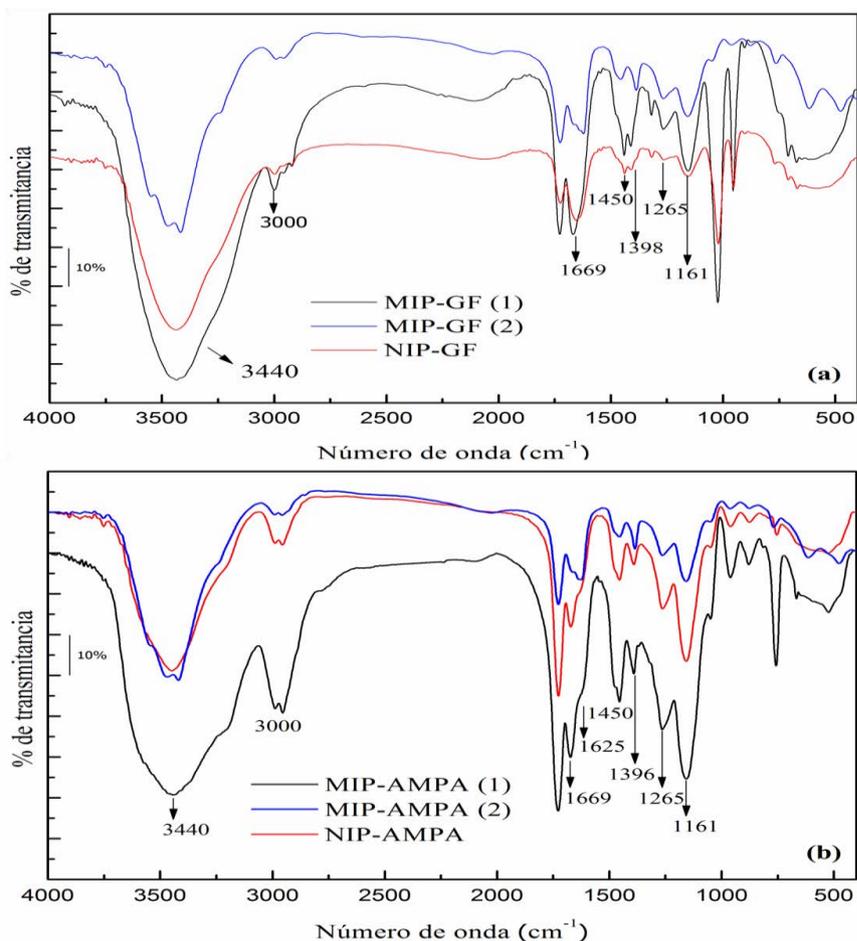


5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS MIPs E DOS NIPs

5.3.1 Espectrometria de infravermelho

Na Figura 9 (a) estão representados os espectros de infravermelho do MIP-GF em três condições, tais quais são: MIP-GF sem lavar, MIP-GF após o procedimento de lavagem e NIP-GF, polímero controle, sintetizado sem o *template* glifosato. Na Figura 11 (b) estão apresentados espectros semelhantes, porém para o MIP-AMPA.

Figura 10 (a) Espectros IR do MIP-GF (1) sem lavar, MIP-GF (2) após a lavagem e do NIP-GF. (b) Espectros IR do MIP-AMPA (1) sem lavar, MIP-AMPA (2) após a lavagem e do NIP-AMPA.



O espectro de IR-FT da matriz polimérica MIP-GF e para o MIP-AMPA apresentaram em 3.440 cm⁻¹ uma banda forte, larga, corresponde às vibrações de grupo OH de molécula de água adsorvida e do monômero funcional acrilamida. As duas bandas de baixa intensidade, que apresenta um pouco mais intensa no MIP-GF do que no MIP-AMPA, próxima a 3000 cm⁻¹ é atribuída à (CH) vibrações de alongamento assimétricas -CH₂ e -CH₃ da cadeia de polímero que compreende acrilamida e espinha dorsal de EGDMA utilizado como reagente de reticulação (SEGATELLI *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2013). A banda em 1710 cm⁻¹ pode ser atribuída ao estiramento da (C = O) de EGDMA e em 1669 cm⁻¹ e 1625 cm⁻¹ correspondem, respectivamente, ao estiramento C=O da acrilamida e da ligação C=C dos grupos vinílicos que não reagiram (LV *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2012).]. As absorções em 1450 cm⁻¹ e 1398 cm⁻¹ são referentes a deformação angular dos CH₂ (scissors) e deformação angular das metilas (umbrella) presentes na estrutura do EGDMA,

respectivamente. Em 1265 cm^{-1} observa-se o estiramento C-N da acrilamida. A banda em 1161 cm^{-1} refere-se ao estiramento O-C(O)-C do grupo éster presente no EGDMA.

Pode ser observar na Figura 9 que não há diferenças características nas composições químicas dos polímeros MIP-GF após realizar o procedimento de lavagem e seu respectivo NIP-GF, o mesmo comportamento é observado para o MIP-AMPA após lavagem e seu respectivo NIP. O MIP-GF e o MIP-AMPA com a molécula molde, ou seja, sem ter realizado o procedimento de lavagem, apresentaram similaridade nas bandas, porém com uma intensidade muito maior que os outros polímeros. Este comportamento é um indício que a lavagem do MIP-GF e MIP-AMPA se mostraram eficiente para a remoção dos *templates* glifosato e AMPA e que não houve incorporação da molécula à estrutura polimérica. Nos espectros de infravermelho na Figura 9 nota-se grande similaridade do conjunto de bandas em todos os espectros, tanto para a molécula molde glifosato, como para o AMPA.

5.3.2 Medidas de microscopia eletrônica de varredura

As morfologias dos polímeros estão ilustradas na Figura 11 e 12. Como pode ser observado nos resultados de MEV obtidos, tanto os polímeros impressos, MIP-AMPA e MIP-GF, quanto os polímeros não impressos (NIPs) apresentam partículas irregulares e distribuição dos tamanhos não uniformes, decorrente do processo de maceração do material durante o procedimento de síntese. Os polímeros impressos, MIP-GF e MIP-AMPA apresentam partículas em escala nanométrica com maior grau de agregação em relação aos correspondentes polímeros não impressos. Esta característica sugere que o *template* exerce influência na morfologia do polímero. Isto pode estar associada a maior solubilidade do complexo acrilamida-*template* nos solventes porogênicos durante o crescimento da cadeia polimérica. Para os polímeros não impressos, observam-se partículas com menor grau de agregação e com distribuição mais uniforme, sugerindo menor solubilidade da acrilamida nos solventes porogênicos e maior solubilidade na cadeia polimérica em crescimento (DINIZ, 2013). De fato, a acrilamida possui elevada solubilidade em água (204 g 100 mL).

Figura 11 Micrografias eletrônicas de varredura dos polímeros MIP-GF (A e B) e NIP-GF (C e D). As imagens foram ampliadas em 1000 (A e C) e 3000 vezes (B e D).

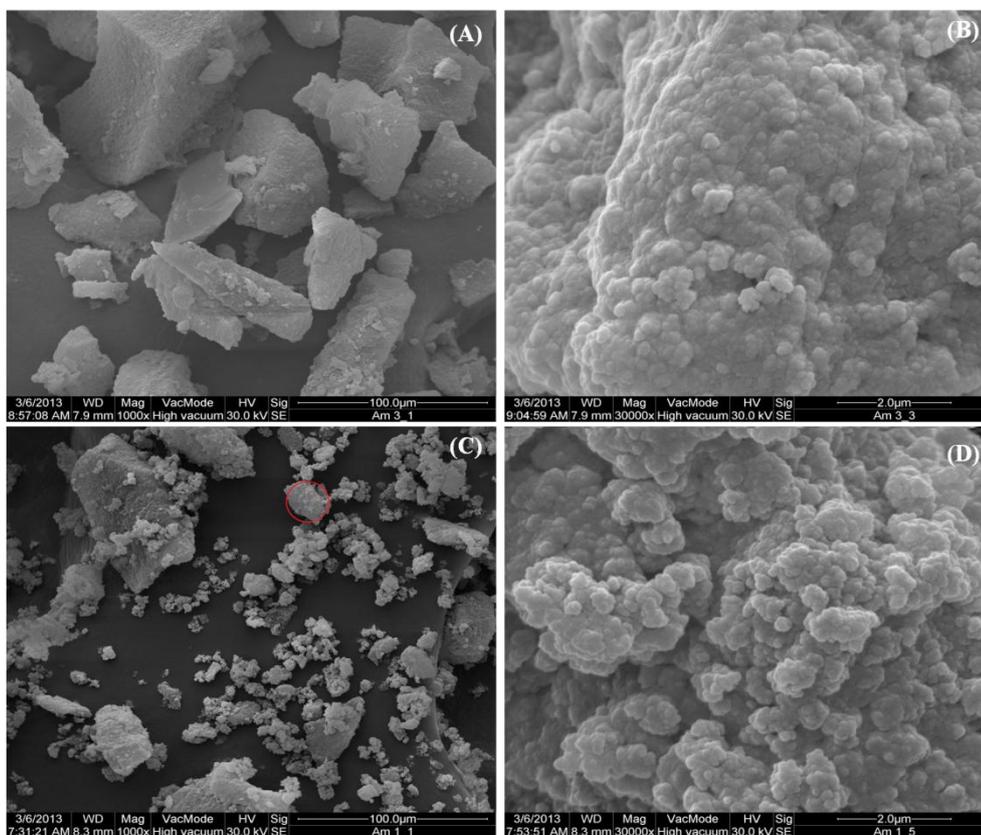
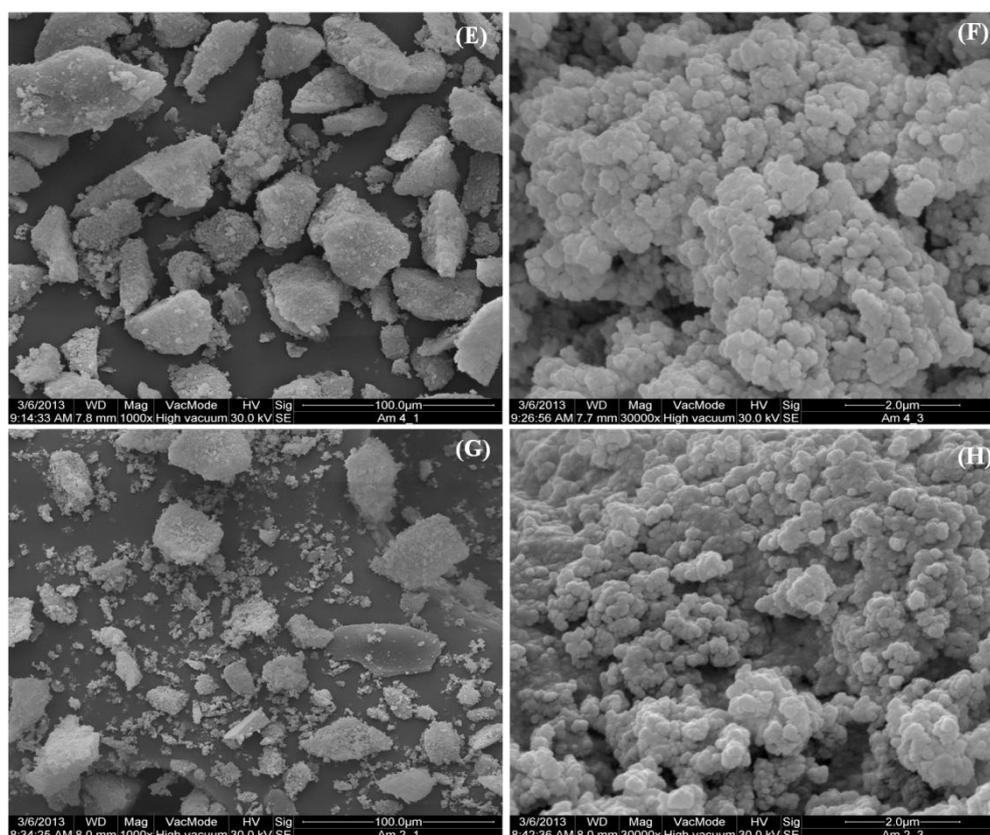


Figura 12 Micrografias eletrônicas de varredura dos polímeros MIP-AMPA (E e F) e NIP-AMPA (G e H). As imagens foram ampliadas em 1000 (E e G) e 3000 vezes (F e H).



5.3.3 Análise da área superficial

Foi confirmada a diferença na porosidade dos materiais por ensaios de porosimetria de sorção de nitrogênio, empregando o método BET (Tabela 4).

Tabela 4 Porosimetria dos polímeros impresso (MIPs) e não impressos (NIPs).

Polímeros	Áreas superficiais ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	Volumes dos poros ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)	Diâmetro médio do poro (nm)
MIP-AMPA	222,7	0,312	1,570
NIP-AMPA	101,0	0,149	1,778
MIP-GF	17,5	0,609	5,597
NIP-GF	136,3	0,304	2,346

O MIP-AMPA é um material que apresenta alta área superficial, por apresentar microporos, ou seja, quanto maior sua área superficial, menor será o diâmetro de poros. Devido esta característica o mesmo é classificado como microporos, pois apresenta diâmetros

menores que 2nm ou 20 Å. Esta característica reflete uma boa acessibilidade aos sítios ativos, sendo uma característica fundamental em processos adsorptivos (Amgarten, 2006).

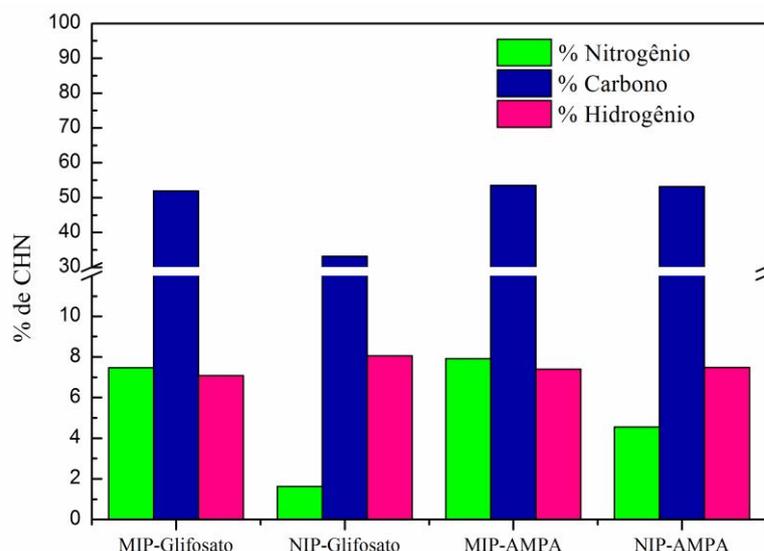
O MIP-GF apresentou uma área superficial menor, igual a $17,5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, e um diâmetro de médio de poros de 5,597 nm, caracterizando assim um material mesoporoso, por apresentar diâmetro de poros entre 2 nm – 50 nm. Materiais mesoporoso contribuem para a cinética de transporte do analito de interesse e aumenta a reutilização do polímero, e evita o “efeito de memória” durante etapas de pré-concentração/eluição (Oliveira, *et al.*, 2013; Diniz, *et al.*, 2013).

Os polímeros controles (NIPs) apresentaram áreas superficiais próximas, porém com diâmetros de poros distintos, caracterizando para o NIP-AMPA como sendo um material microporoso e o NIP-GF como sendo um material mesoporoso (Amgarten, 2006; Oliveira, *et al.*, 2013; Diniz, *et al.*, 2013).

5.3.4 Análise Elementar dos MIPs e dos NIPs

A fim de avaliar o grau de incorporação do monômero poli(acrilamida), as composições dos polímeros MIP-GF e MIP-AMPA, e seus respectivos polímeros controles, foram analisada em relação a quantidade de hidrogênio, carbono e nitrogênio presente, utilizando um analisador elementar CE Instruments, modelo EA 1110. Para o MIP-GF os percentuais de C, H e N foram, respectivamente, 51,9, 7,1 e 7,5 % ao passo que, para o NIP-GF os valores foram, 33,1, 8,1 e 1,6%. Para o MIP-AMPA os percentuais foram 53,5 C, 7,4 H e 7,9 N e para o NIP-AMPA, 53,2 C, 7,5 H e 4,5 N. Estes resultados estão representados na Figura 13.

Figura 13 Percentagens obtidas através da análise elementar de nitrogênio, carbono, hidrogênio e enxofre dos polímeros, MIP-GF e seu respectivo NIP-GF, bem como do MIP-AMPA e seu respectivo NIP-AMPA.



A partir de cálculo estequiométrico, foram determinados os percentuais (em % mol) de cada monômero na matriz polimérica (Tabela 5).

Tabela 5 Porcentagem molar do monômero acrilamida empregado na síntese do MIP-GF, NIP-GF, MIP-AMPA e NIP-AMPA.

Polímero	Monômeros	Poli(acrilamida) (% mol)	
		Antes da polimerização	Após a polimerização
MIP-GF	AAm	39,9	66,2
	EGDMA	60,1	33,8
NIP-GF	AAM	39,9	32,7
	EGDMA	60,1	67,5
MIP-AMPA	AAm	30,7	67,1
	EGDMA	69,3	32,8
NIP-AMPA	AAm	30,7	48,5
	EGDMA	69,3	51,5

Para o MIP-GF, é possível observar que a porcentagem molar do monômero funcional na rede polimérica foi maior em 1,65 vezes que no material de partida. Por outro lado, para o polímero controle, NIP-GF, a taxa de conversão molar foi muito baixa com percentual molar inferior ao material de partida. Para o MIP-AMPA a porcentagem molar do monômero foi igual a 2,19 vezes maior que no material de partida, e seu polímero controle apresentou taxa

de conversão molar menor que o polímero impresso, sendo somente 1,58 vezes maior que o material de partida.

A maior taxa de conversão do monômero naqueles polímeros contendo o *template* revela maior reatividade da acrilamida, sugerindo a adequada estratégia de síntese adotada para os MIPs de ambos os analitos de interesse. Adicionalmente, a maior quantidade de poli(acrilamida) é um parâmetro que pode explicar a maior seletividade nos polímeros impressos por conta da formação de cavidades seletivas.

5.3.5 Medidas termogravimétricas

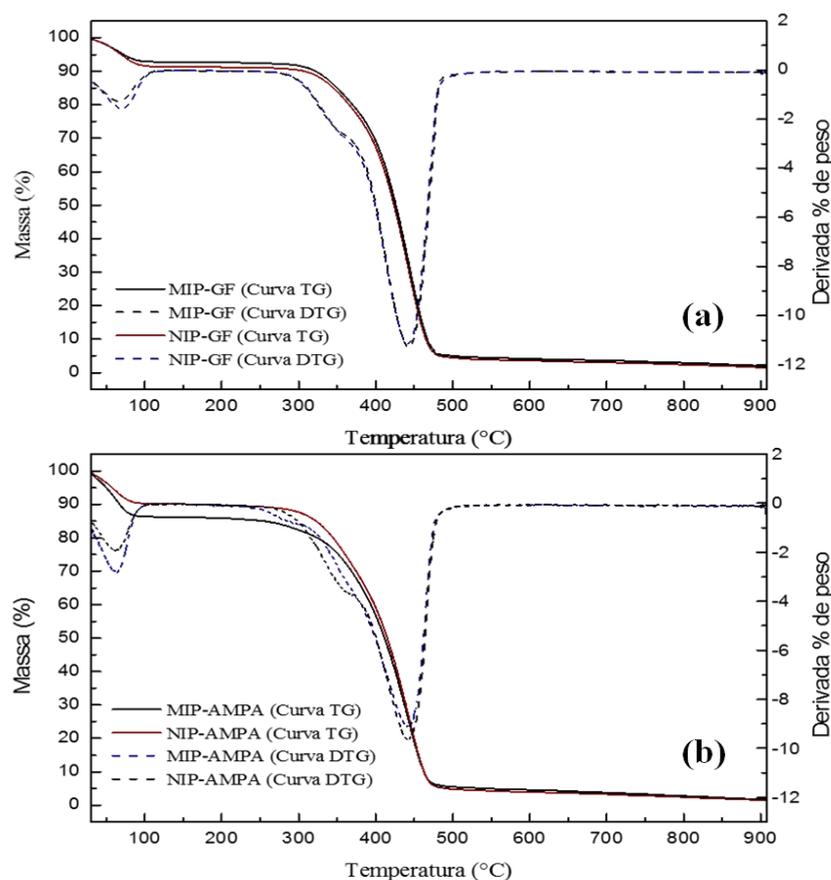
A Figura 14 apresenta as curvas termogravimétricas dos polímeros impresso e não-impresso referente ao glifosato (a) e ao AMPA (b). Essas curvas permitem determinar a faixa onde o material é termicamente estável até o momento em que toda fase orgânica é consumida. É possível observar que as curvas térmicas são similares para os polímeros impressos e seus respectivos polímeros não-impressos, indicando semelhanças na composição dos materiais sintetizados.

Até 200°C o MIP-GF perde aproximadamente 7,29% de massa, enquanto para o NIP-GF a perda foi de 8,70%. Provavelmente esta perda seja proveniente de água adsorvida fisicamente e/ou solvente de síntese clorofórmio que apresenta ponto de ebulição de 61,2°C e do solvente de síntese DMSO que apresenta ponto de ebulição de 189°C. Entre 225°C e aproximadamente 450°C ocorre degradação dos segmentos de poli(acrilamida) e também de poli(EGDMA) (SEGATELLI et al., 2010; THAKUR et al., 2011).

Resultados termogravimétricos similares foram obtidos para o MIP-AMPA, exceto pelas diferenças percentuais de perda de massa nos eventos, o que pode está relacionado com as diferentes composições molares dos monômeros entre os polímeros. Onde, ocorreu perda de 12,72% de massa até 82°C, enquanto para o NIP-AMPA a perda foi de 8,90%, provavelmente água adsorvida fisicamente, solventes de síntese, ACN, e/ou gases presentes no material. Pode-se observar que a maior perda de massa ocorre entre 350°C e 430°C para ambos os polímeros, apresentada pela acentuada queda na curva TG. Para ambos os polímeros, impressos ou não, acima de 350°C e até aproximadamente 450°C inicia-se uma perda de massa em torno de 28,07% ou 42,93% para MIP-AMPA, respectivamente, que provavelmente são referentes à poli(acrilamida) (SILVA, 2006).

Na curva de DTG para o MIP-GF é possível visualizar um pico referente à maior perda de massa, em 350°C e 500°C, semelhante ao encontrado nas curvas de MIP-AMPA, onde pode-se confirmar degradação da poli(acrilamida), sendo confirmada pelo acentuado pico apresentado pela curva DTG.

Figura 14. (a) Curvas multivariadas das análises termogravimétricas (TG) e das análises termogravimétricas derivadas (DTG) dos adsorventes MIP-GF e NIP-GF. **(b)** Curvas multivariadas de TG e DTG para o MIP-AMPA e NIP-AMPA.



A Tabela 6 mostra a porcentagem de massa perdida entre as temperaturas de 30 a 630°C até a temperatura final que correspondem a parte orgânica do polímero, sendo que a perda de massa foi de 95,93% para o MIP-GF, 96,51% para o NIP-GF, 95,31% para o MIP-AMPA e de 96,04% para o NIP-AMPA.

Tabela 6 Porcentagem de perda de massa em função da temperatura do MIP-GF, NIP-GF, MIP-AMPA e do NIP-AMPA.

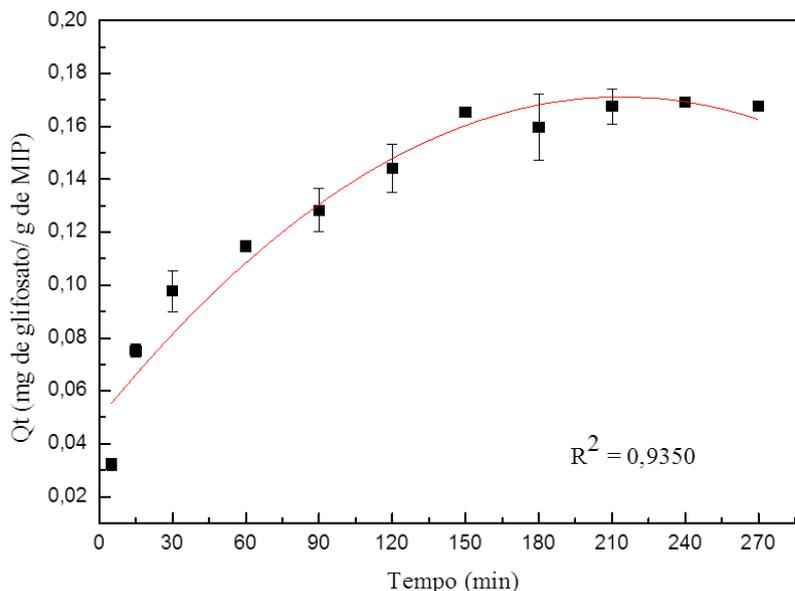
Temperatura (°C)	MIP-GF (%)	NIP-GF (%)
30 a 130	7,12	8,52
130 a 230	0,27	0,27
230 a 330	3,62	3,37
330 a 430	42,65	43,61
430 a 530	41,65	40,15
530 a 630	0,62	0,59
Total	95,93	96,51
Temperatura (°C)	MIP-AMPA (%)	NIP-AMPA (%)
30 a 130	13,50	9,71
130 a 230	0,73	0,59
230 a 330	6,28	5,88
330 a 430	42,93	45,24
430 a 530	31,12	33,94
530 a 630	0,75	0,68
Total	95,31	96,04

5.4 PARÂMETROS CINÉTICOS

Os parâmetros cinéticos avaliam o comportamento de adsorção do analito pelo adsorvente através da aplicação de modelos cinéticos, como o de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem, Elovich e difusão intrapartícula. O modelo que apresentar melhor ajuste linear, ou seja, maior coeficiente de regressão linear, menor será a diferença entre o Q_e calculado utilizando o modelo e o Q_e obtido experimentalmente. (OLIVEIRA, *et al.*, 2013; DINIZ, *et al.*, 2013). Para a realização destes estudos utilizou-se 100 mg do adsorvente com 25 mL de solução dos analito, glifosato e AMPA, para seus respectivos adsorventes em concentração 1 mg L^{-1} sendo submetidos a agitação em diferentes tempos.

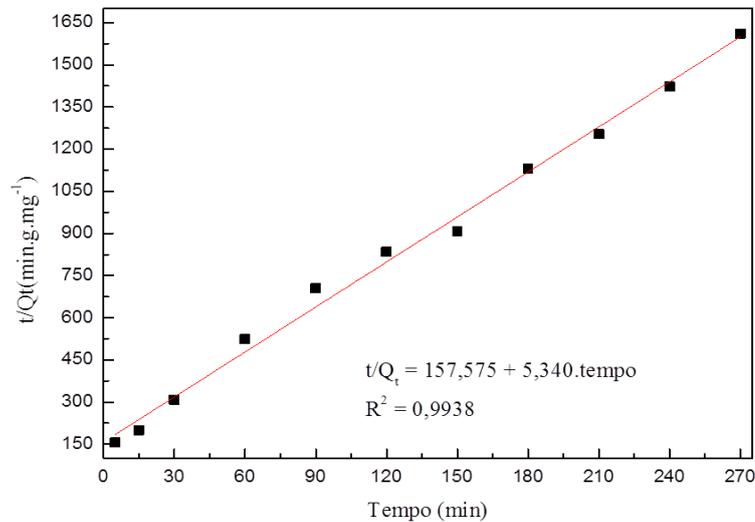
5.4.1 Parâmetros Cinéticos MIP-GF

Na Figura 15 estão reunidos os tempos estudados e os correspondentes valores de Q_t (quantidade de glifosato adsorvido no material para cada tempo de agitação) e de acordo com a Figura 16, a quantidade adsorvida de glifosato sob condições de equilíbrio é de $0,1670 \text{ mg g}^{-1}$.

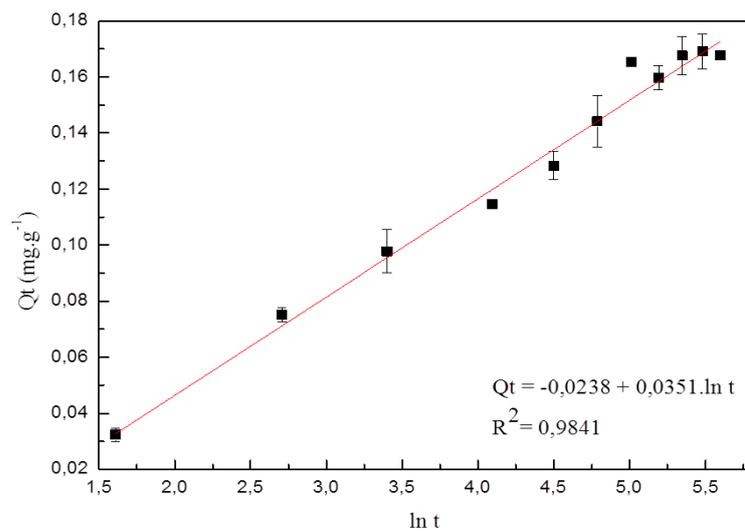
Figura 15 Estudo de Q_t para diversos tempos de agitação MIP-GF ($n = 2$).

Foram aplicados os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem, Elovich e difusão intrapartícula (Figuras 16 a 19) para os resultados obtidos com as quantidades de glifosato adsorvido no material para cada tempo de agitação.

Através dos ajustes dos dados experimentais nos modelos cinéticos através da regressão linear, pode ser observado que a adsorção do glifosato no adsorvente MIP-GF ocorre via mecanismo de pseudo-segunda ordem (Figura 16), com coeficiente de correlação igual a 0,9938. Outro fator relevante é o valor de Q_e teórico ($0,1873 \text{ mg g}^{-1}$), o qual aproxima-se do valor obtido experimentalmente ($0,1670 \text{ mg g}^{-1}$). O mecanismo de segunda ordem indica que o adsorvato, glifosato, se liga a dois sítios ativos da superfície do adsorvente, MIP-GF.

Figura 16 Modelo cinético pseudo-segunda-ordem MIP-GF (n = 2).

Em ordem decrescente de importância o modelo de Elovich (Figura 17) também apresentou um ajuste linear adequado (0,9841), este modelo também pode ser utilizado para descrever a cinética pseudo-segunda ordem, pois ele assume que a superfície do adsorvente é energeticamente heterogênea. Além disso, considera que a quimissorção ocorre rapidamente, seguida posteriormente por uma ligeira adsorção, que ocorre de forma mais lenta, decorrente do processo de dessorção que ocorre de dentro e para fora do adsorvente (OLIVEIRA, *et al.*, 2013).

Figura 17 Modelo cinético de Adsorção Elovich para o MIP-GF (n=2).

Como pode ser observado na Figura 18 o modelo pseudo-primeira ordem não apresenta um ajuste linear dos resultados maior que o modelo pseudo-segunda ordem quando

correlacionado $\log(Q_e - Q_t)$ em função do Tempo (minutos). Isto pode ser observado em toda a faixa de tempo estudada, e confirma que o adsorvato não adsorve na superfície do adsorvente em apenas um sítio ativo, e sim a dois sítios ativos, caracterizando o modelo de pseudo-segunda ordem. Além disso, verificou-se, que os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (Figura 18) e de difusão intrapartícula (Figura 19) não foram ajustadas apropriadamente em diversos casos, principalmente quando comparado os valores de coeficiente de correlação obtidos, ao qual apresentaram valores de 0,8455, para o modelo pseudo-primeira ordem, e de 0,9289 e 0,7080, para o modelo difusão intrapartícula.

Figura 18 Modelo cinético pseudo-primeira-ordem MIP-GF (n = 2).

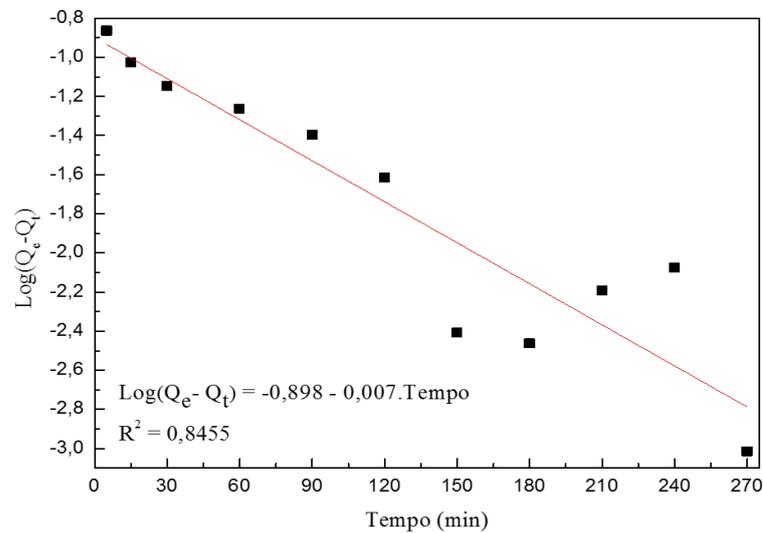
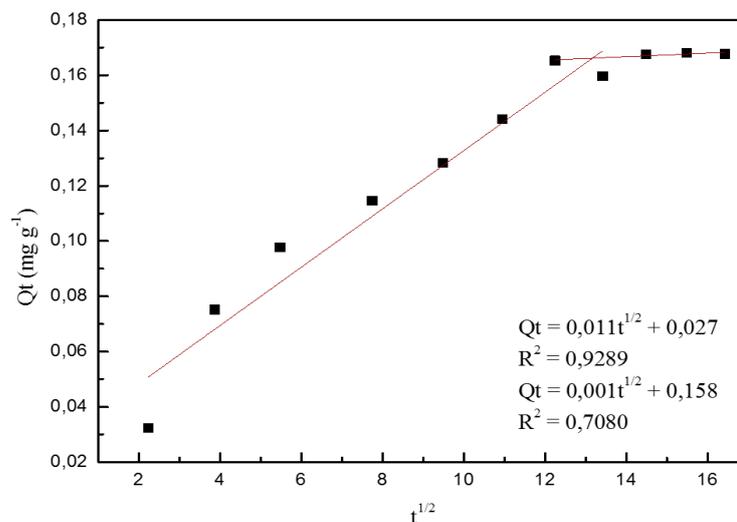


Figura 19 Modelo Cinético difusão intrapartícula do MIP-GF.



Os parâmetros cinéticos estão apresentados na Tabela 7.

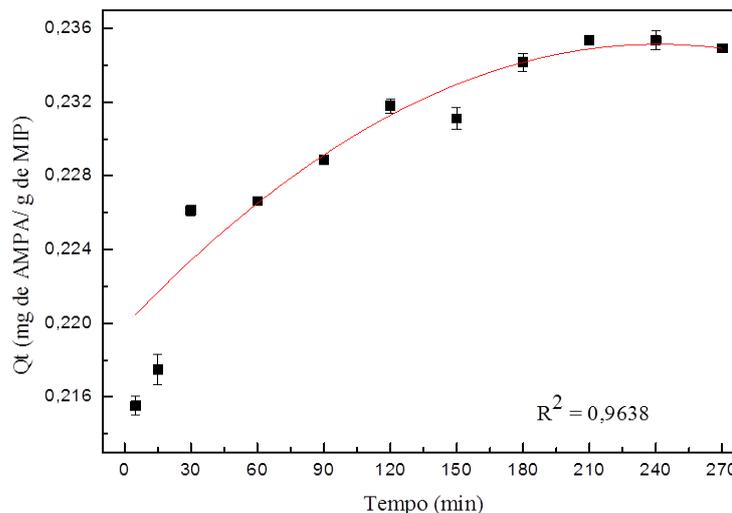
Tabela 7 Parâmetros cinéticos do MIP-GF. Valor de Q_e experimental = 0,1670 mg g⁻¹.

Cinética	Q_e	k_1	k_2	K_p	C	α	β	R^2
Pseudo 1ª ordem	0,407	0,003	—	—	—	—	—	0,8455
Pseudo 2ª ordem	0,187	—	1,810	—	—	—	—	0,9938
Difusão de intrapartícula	—	—	—	0,011 0,001	0,027 0,158	—	—	0,9289 0,7080
Elovich	—	—	—	—	—	14,460	0,035	0,9841

Onde: Q_e é a quantidade adsorvida do analito (mg g⁻¹) no equilíbrio, k_1 é a constante da taxa de adsorção do modelo pseudo-primeira-ordem (min⁻¹), k_2 é a constante da taxa de adsorção de pseudo – segunda – ordem (min g mg⁻¹), K_p é a constante de difusão intrapartícula (mg g⁻¹ min⁻¹), C é uma constante relacionada com a resistensia á difusão (mg g⁻¹), β é a constante de dessorção (g mg⁻¹) e α é a velocidade inicial de adsorção (mg g⁻¹ min⁻¹).

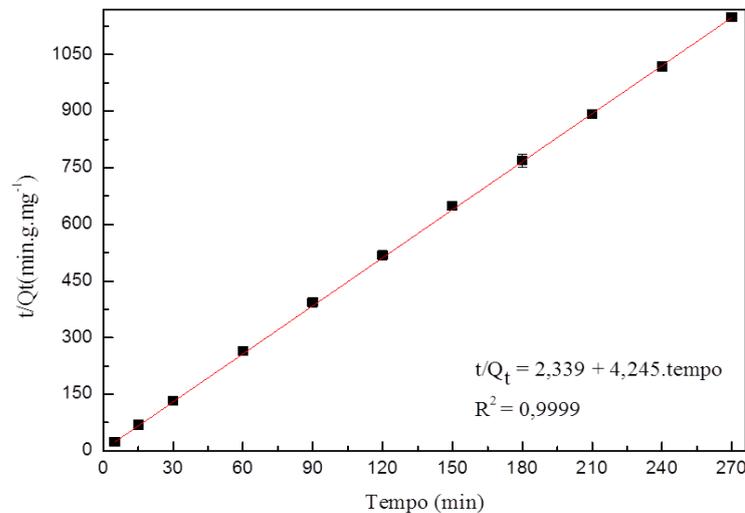
5.4.2 Parâmetros Cinéticos MIP-AMPA

Na Figura 19 estão reunidos os tempos estudados e os correspondentes valores de Q_t (quantidade de AMPA adsorvido no material para cada tempo de agitação) e a partir disso obteve-se que a quantidade adsorvida de AMPA sob condições de equilíbrio que é de 0,2353 mg g⁻¹.

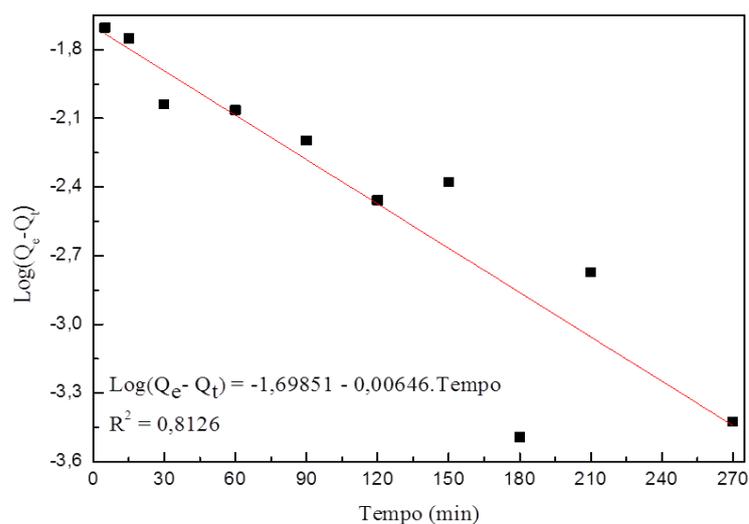
Figura 20 Estudo de Q_t para diversos tempos de agitação MIP-AMPA (n = 2).

A fim de avaliar a adsorção de um adsorvato em um adsorvente, foram empregados modelos cinéticos, como o modelo de pseudo-primeira ordem, modelo pseudo-segunda ordem, equação de Elovich e difusão intrapartículas.

O MIP-GF pode ser observado que a adsorção do analito AMPA no adsorvente MIP-AMPA ocorre via mecanismo de pseudo-segunda ordem (Figura 21), pois foi o modelo cinético que apresentou melhor valor de correlação, linearidade, e valor de Q_e teórico ($0,2356 \text{ mg g}^{-1}$) mais próximo do valor real ($0,2353 \text{ mg g}^{-1}$). O mecanismo de segunda ordem indica que o adsorvato, AMPA, se liga a dois sítios ativos da superfície do adsorvente com diferentes energias de ligação e a quimissorção é a taxa limitante quando envolve o compartilhamento ou troca de elétrons entre o adsorvente e o adsorvato, e que a taxa de ocupação é proporcional ao quadrado do número de locais não ocupados.

Figura 21 Modelo cinético pseudo-segunda-ordem MIP-AMPA (n = 2).

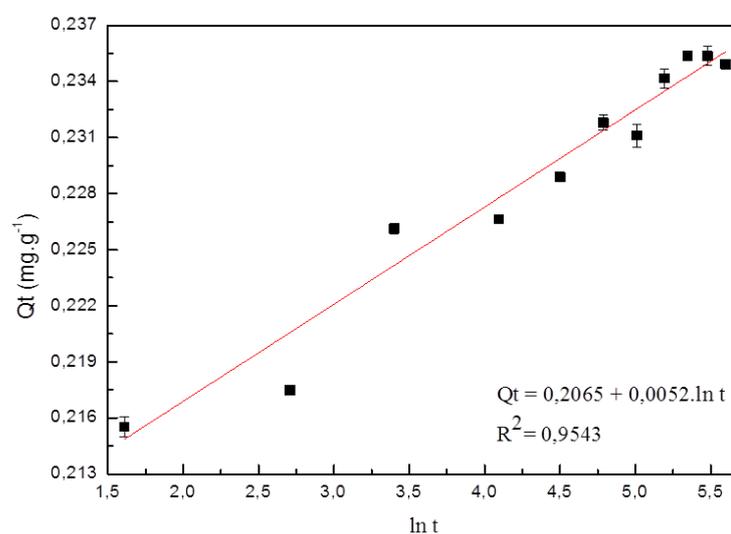
Como pode ser observado na Figura 22, o modelo pseudo-primeira ordem não apresenta um ajuste linear (0,8156) dos resultados maior que o modelo pseudo-segunda ordem quando correlacionado $\log(Q_e - Q_t)$ em função do Tempo (minutos). Isto pode ser observado em toda a faixa de tempo estudada, e confirma que o adsorvato não adsorve na superfície do adsorvente em apenas um sítio ativo, e sim a dois sítios ativos, caracterizando o modelo de pseudo-segunda ordem.

Figura 22 Modelo cinético pseudo-primeira-ordem MIP-AMPA (n = 2).

O modelo cinético de adsorção de Elovich (Figura 23) que também foi estudado, pode ser utilizado para descrever a cinética pseudo-segunda ordem, onde este modelo assume que a

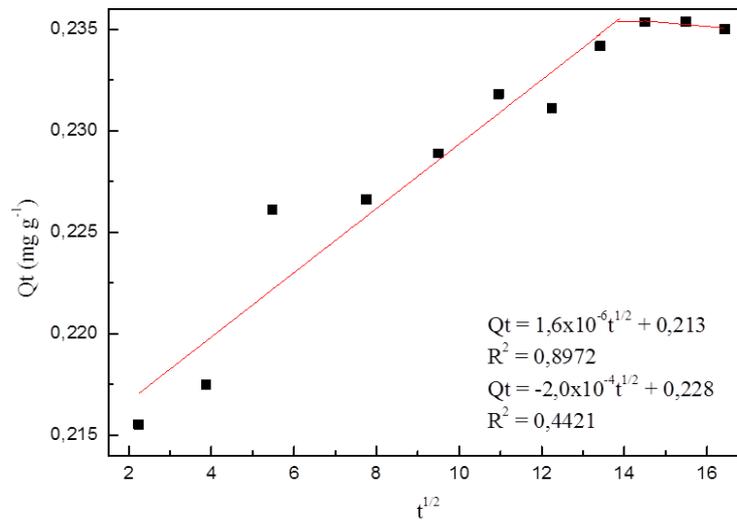
superfície sólida é energeticamente heterogênea e que o processo de quimissorção ocorre de maneira rápida (DINIZ, *et. al.*, 2013).

Figura 23 Modelo cinético de Adsorção Elovich para o MIP-AMPA (n = 2).



O modelo de difusão intrapartícula (Figura 24) também foi estudado, e não apresentou como sendo um modelo cinético que descreve a adsorção do adsorvato pelo adsorvente, isso pode ser concluído através dos coeficientes de correlação (0,8972 e 0,4421).

Figura 24. Modelo Cinético difusão intrapartícula do MIP-AMPA (n = 2).



Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 8 e os gráficos para cada modelo estão representados nas Figuras 21 a 24.

Tabela 8. Parâmetros cinéticos para o MIP-AMPA. Valor de q_e experimental = $0,2353 \text{ mg g}^{-1}$

Cinética	Q_e	k_1	k_2	K_p	C	α	β	R^2
Pseudo 1ª ordem	0,183	0,015	—	—	—	—	—	0,8126
Pseudo 2ª ordem	0,236	—	7,704	—	—	—	—	0,9999
Difusão de intrapartícula	—	—	—	$1,6 \times 10^{-3}$	0,213	—	—	0,8972
	—	—	—	$-2,0 \times 10^{-4}$	0,228	—	—	0,4421
Elovich	—	—	—	—	—	$3,4 \times 10^{19}$	0,005	0,9543

Onde: Q_e é a quantidade adsorvida do analito (mg g^{-1}) no equilíbrio, k_1 é a constante da taxa de adsorção do modelo pseudo-primeira-ordem (min^{-1}), k_2 é a constante da taxa de adsorção de pseudo – segunda – ordem (min g mg^{-1}), K_p é a constante de difusão intrapartícula ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$), C é uma constante relacionada com a resistências á difusão (mg g^{-1}), β é a constante de dessorção (g mg^{-1}) e α é a velocidade inicial de adsorção ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$).

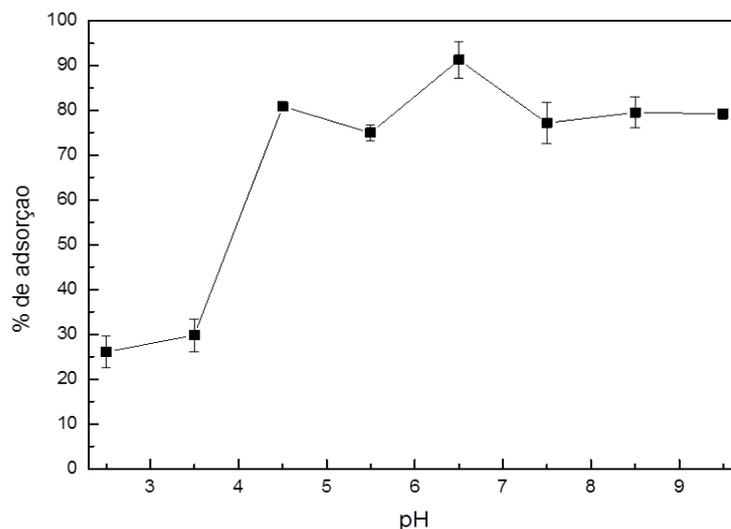
5.5 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Para construção das isotermas foi levado em consideração os dois parâmetros relevantes (descrito na seção 4.7.1), tais quais são o tempo de agitação e o pH ótimo da solução.

5.5.1 Isoterma de adsorção MIP-GF

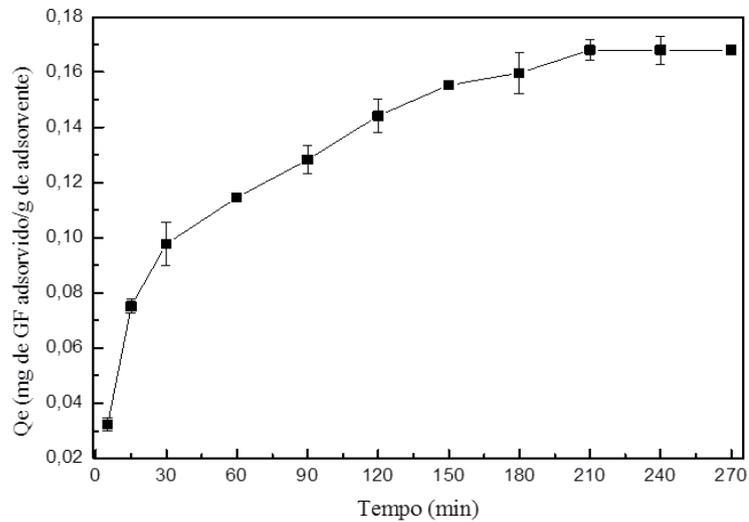
A Figura 25 mostra um gráfico do efeito da variação do pH na adsorção do glifosato. Observou-se que houve pouca variação entre pH 4,5 e 9,5, e uma variação um pouco mais acentuada abaixo do pH de 4,0. Isso se deve provavelmente porque no pH 2,5 a molécula de glifosato encontra-se com carga zero devido a uma dissociação no grupo fosfônico e a protonação no grupo amino. E no pH 3,5, o glifosato apresenta-se com carga negativa e a acrilamida com carga positiva. Como adsorção é baixa neste pH, pode-se concluir que a retenção do glifosato não ocorre por atração eletrostática na superfície do polímero, mas por forças intermoleculares, do tipo ligação de hidrogênio. Como o pH encontrado em águas naturais da região é em torno de 6,0 e 7,5, e o material poderá ser aplicado em futuros estudos de matrizes ambientais da região, o pH 6,5 foi escolhido para efetuar os experimentos de adsorção.

Figura 25 Efeito do pH na porcentagem de adsorção de GF no MIP. Concentração de GF 1,0 mg L⁻¹ (n =2).



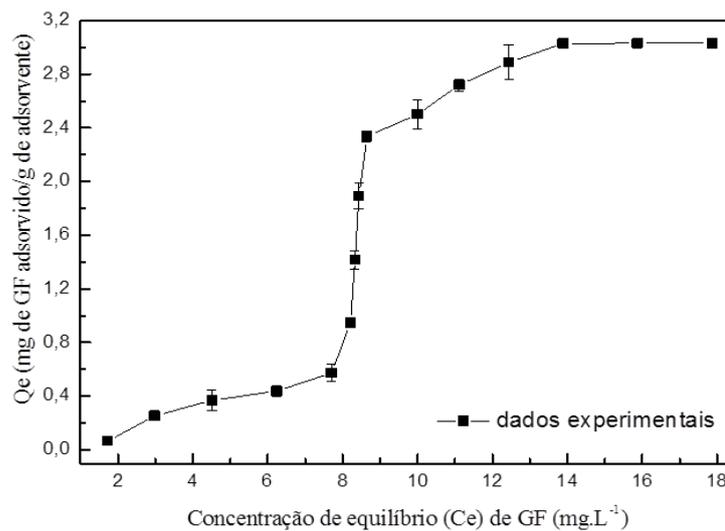
A Figura 26 ilustra o efeito do tempo de agitação na adsorção do glifosato. Como pode ser visualizado o tempo de agitação em que a adsorção foi máxima e constante foi em torno de 240 minutos, portanto esse tempo foi fixado para realização dos estudos de isoterma. Para o tempo de agitação o meio foi mantido em tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹.

Figura 26 Efeito do tempo de agitação na capacidade de adsorção Q_e (mg de GF adsorvido/ g de adsorvente) de GF no MIP (n =2). Concentração de GF $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.



A Figura 27 mostra a isoterma de adsorção do MIP-GF representado para os resultados experimentais, a qual foi construída relacionando a concentração de equilíbrio (eixo das abscissas) e a porcentagem de glifosato adsorvida por grama de adsorvente.

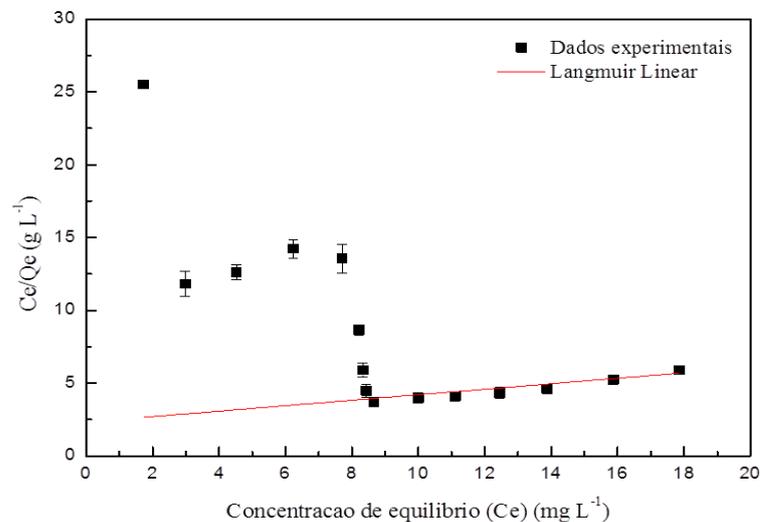
Figura 27 Dados experimentais obtidos para construção das Isoterma de adsorção do MIP-GF (n =2).



A fim de obter a quantidade máxima de glifosato adsorvida pela quantidade de massa do MIP-GF (capacidade máxima de adsorção do material) foi aplicado os modelos lineares de Langmuir e de Freundlich.

Para a construção dos modelos de Langmuir aplicou-se a linearização através da relação da concentração de equilíbrio glifosato (C_e mg L⁻¹) e a concentração de equilíbrio de glifosato (C_e mg L⁻¹) sobre a quantidade de glifosato pela quantidade de material adsorvente Q_e (mg de glifosato/g de MIP-GF) (Figura 28). Este modelo de isoterma sugere que os sítios de adsorção possuem a mesma energia independente da superfície coberta, ou seja, são energeticamente homogêneos. Também assume que somente um sítio de ligação que se apresenta bem separado e caracterizado pela estequiometria, apresentando força de interação entre as moléculas adsorvidas desprezíveis, e que somente quando a superfície da adsorção é coberta por uma monocamada de adsorvato é que ocorreu a adsorção máxima (ANDRADE, 2010). No experimento com o MIP-GF um coeficiente de determinação relativamente baixo ($R^2 = 0,2478$) foi obtido, como pode ser observado na Figura 28.

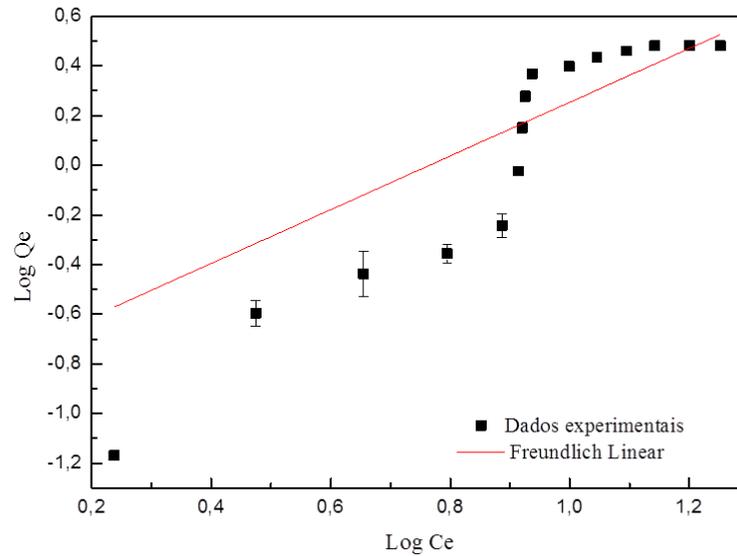
Figura 28 Isoterma de Langmuir-Linear na adsorção de GF no MIP (n =2).



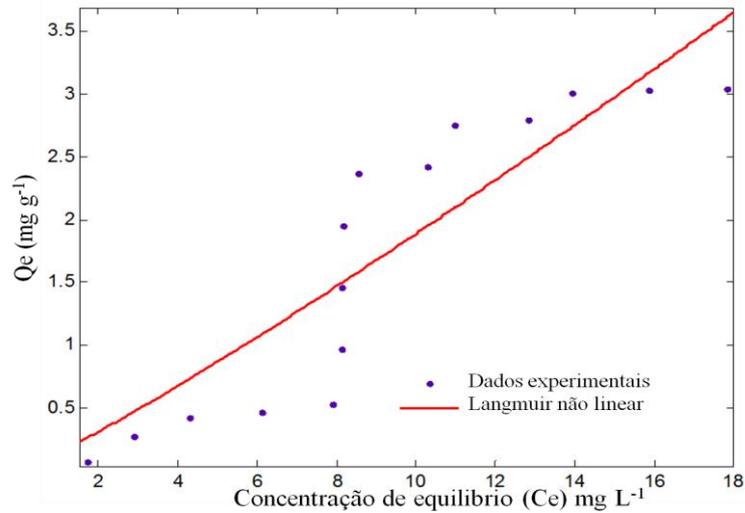
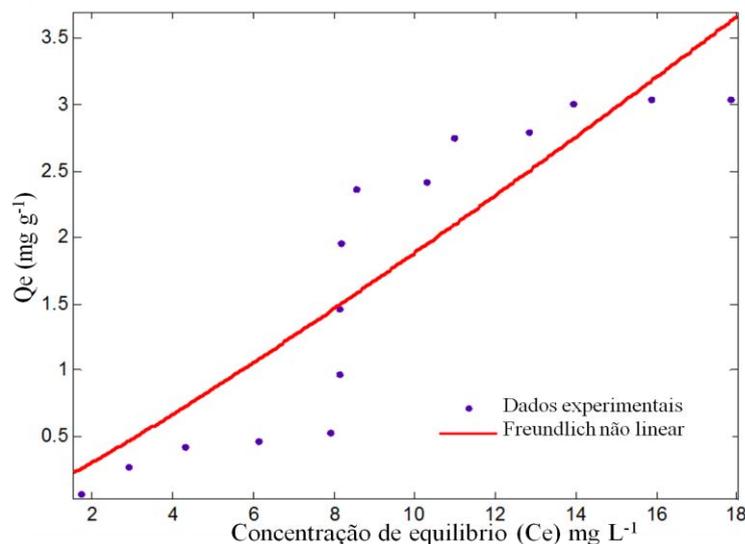
Já para o modelo de Freundlich o valor do coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,6632 (Figura 29). Este modelo sugere que a superfície do adsorvente é heterogênea o qual decorre o decréscimo de energia de adsorção, e que as ligações dos analitos no material adsorvente podem ocorrer com estequiometrias diferentes, decorrente da formação de ligações cooperativas devido à ligação de clusters de moldes ou a ligação de uma molécula molde a um sítio já ocupado por outra molécula. Este modelo também sugere que existam dois ou

mais sítios de ligação no material cada um com variedade na constante de ligações diferentes (PEREIRA, 2008).

Figura 29 Isoterma de Freundlich-Linear na adsorção de GF no MIP (n =2).



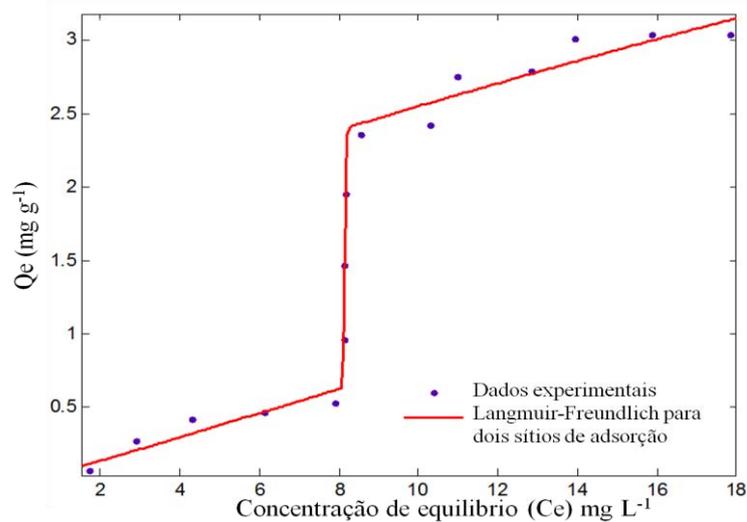
As isotermas de Langmuir e Freundlich quando construídas com os parâmetros linearizados apresentaram um comportamento inferior em relação às regressões não lineares (R^2). Contudo, as isotermas não lineares de Langmuir e Freundlich (Figuras 30 e 31) não apresentaram valores de coeficientes de correlações adequados para descrever o processo de adsorção do MIP-GF e as capacidades de adsorção máxima se mostraram inferiores a experimental.

Figura 30 Isoterma de Langmuir não linear na adsorção de GF no MIP**Figura 31** Isoterma de Freundlich não linear na adsorção de GF no MIP.

O modelo não linear Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção (Figura 32) apresentou o melhor ajuste linear ($R^2 = 0,9954$) quando comparados com os modelos de isotermas trabalhados (Figuras 29 a 33). Isto sugere que existam dois sítios de adsorção ativos diferentes, os homogêneos e os heterogêneos, para a afinidade com o adsorvato glifosato. Este modelo é descrito por duas equações, Langmuir e Freundlich, onde ocorre uma efetiva redução para baixas concentrações de adsorvato na isotérmica de Freundlich. Em contrapartida para isoterma de Langmuir a concentrações elevadas de adsorvato prediz uma monocamada característica (OLIVEIRA, *et al.*, 2013). A capacidade adsorptiva máxima teórica do polímero

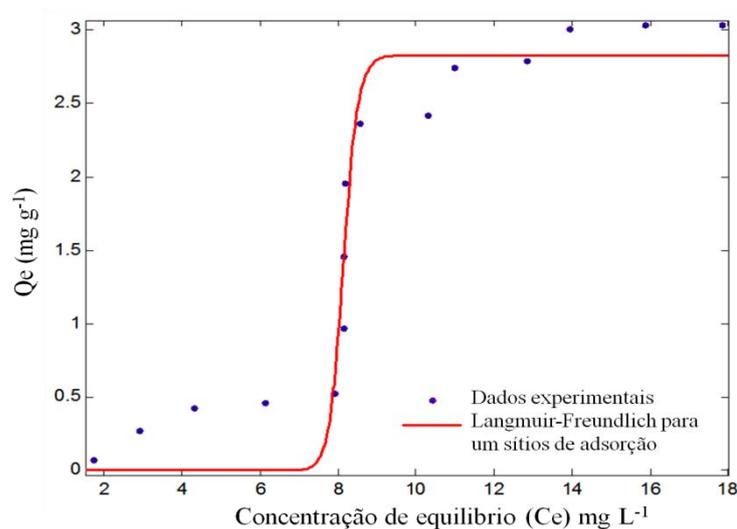
impresso para o analito glifosato encontrada com este modelo foi de $3,37 \text{ mg g}^{-1}$, sendo a capacidade máxima adsortiva encontrada experimentalmente igual a $3,03 \text{ mg g}^{-1}$.

Figura 32 Isoterma de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção na adsorção de GF no MIP.



O modelo de isoterma de Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção (Figura 33) apresentou um coeficiente de correção (R^2 0,9572) menor do que o obtido para Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção (R^2 0,9954), não representando como sendo o modelo que descreve a adsorção do glifosato pelo material molecularmente impresso, MIP-GF.

Figura 33 Isoterma de Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção na adsorção de GF no MIP



Na tabela 9 são apresentadas as equações dos modelos propostos e os valores dos parâmetros que são aplicáveis em cada situação.

Tabela 9 Equações das isotermas de adsorção e estimativas dos parâmetros das isotermas ajustadas com respectivo erro padrão (EP) e coeficiente de determinação R² do MIP-GF.

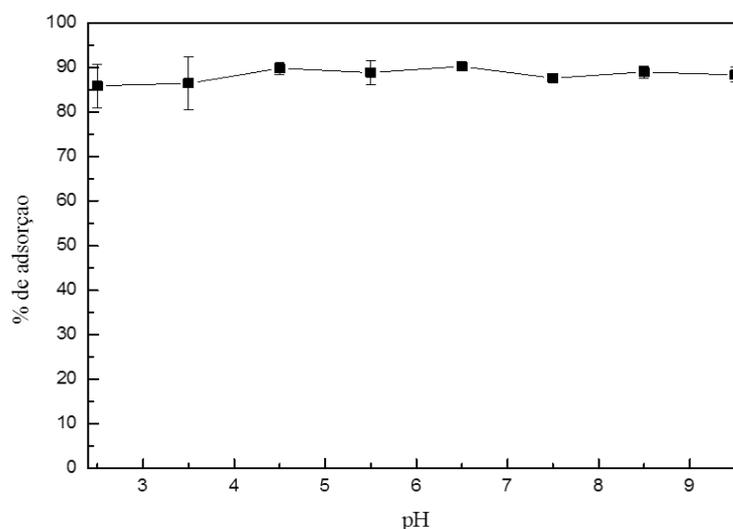
Modelos	Equação	K ₁	K ₂	b ₁	b ₂	n ₁	n ₂	R ²
Linear de Langmuir	$C_{eq} / Q_{eq} = 1 / Kb + C_{eq} / b$	0,063	-	12,58	-	-	-	0,2478
Linear de Freundlich	$\log Q_{eq} = \log K + 1/n \log C_{eq}$	0,149	-	-	-	0,92	-	0,6603
Não linear de Langmuir	$Q_{eq} = KbC_{eq} / (1 + KC_{eq})$	1,5x10 ⁻⁴	-	1251	-	-	-	0,7887
Não linear de Freundlich	$Q_{eq} = KC_{eq}^{1/n}$	0,131	-	-	-	1,16	-	0,7682
Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção	$Q_{eq} = b(KC_{eq})^{n_1} / 1 + (KC_{eq})^{n_1}$	0,120	-	2,88	-	27,83	-	0,9572
Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção	$Q_{eq} = \frac{b_1(K_1C_{eq})^{n_1}}{1 + (K_1C_{eq})^{n_1}} + \frac{b_2(K_2C_{eq})^{n_2}}{1 + (K_2C_{eq})^{n_2}}$	0,119	0,105	1,87	1,50	76,35	1,966	0,9954

^a Note: K_{1,2} (Langmuir) (L mg⁻¹); K_{1,2} (Freundlich) (mg g⁻¹) (L g⁻¹); b₁ e b₂: quantidade máxima de adsorção (mg g⁻¹); n: constante empírica de Freundlich;

5.5.2 Isoterma de adsorção MIP-AMPA

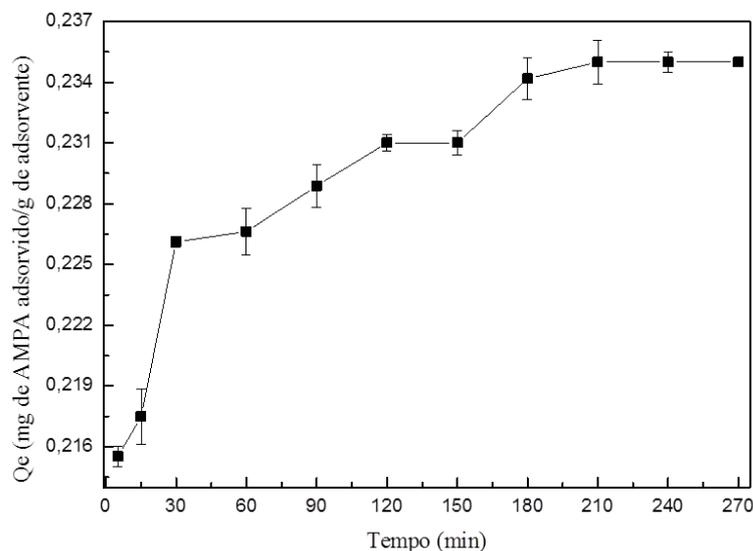
A Figura 34 mostra um gráfico do efeito da variação do pH na adsorção do AMPA. Pode-se observar, para o MIP-AMPA, insignificante diferença no perfil adsorptivo em toda a faixa de pH estudada (2,5 a 9,5), indicando robustez analítica para esta variável. A ausência de um valor ótimo de pH pode ser explicada considerando que a molécula de AMPA, igualmente a acrilamida, possui diferentes sítios de ligação que podem estar disponíveis em ampla faixa de pH. Mediante os resultados obtidos e, considerando que o pH em águas naturais que poderá ser utilizado em estudos futuros é em torno de 6,0 e 7,5, o pH 6,5 foi escolhido para efetuar os experimentos de adsorção.

Figura 34 Efeito do pH na porcentagem de adsorção de AMPA no MIP. Concentração de AMPA $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ (n =2).



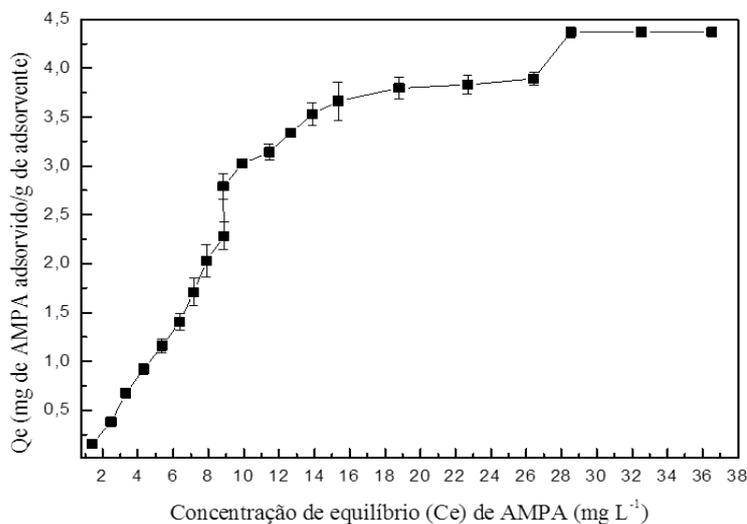
A Figura 35 ilustra o efeito do tempo de agitação na adsorção do AMPA. Como pode ser visualizado o tempo de agitação em que a adsorção foi máxima e constante foi em torno de 240 minutos, portanto esse tempo foi fixado para realização dos estudos de isoterma. Para o tempo de agitação o meio foi mantido em pH 6,5.

Figura 35 Efeito do tempo de agitação na capacidade de adsorção (Q_e) de AMPA no MIP-AMPA. Concentração de AMPA $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ($n=2$).



Para construção das isotermas foi levado em consideração os dois parâmetros relevantes (descrito na seção 4.7.1), o tempo de agitação e o pH ótimo da solução. O tempo de agitação utilizado foi de 240 minutos e o pH da solução foi de 6,50, sendo que em ambos foram feitos em tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 36 apresenta a isoterma de adsorção do MIP-AMPA, a qual foi construída relacionando a concentração de equilíbrio (no eixo das abscissas) e a capacidade de adsorção Q_e do AMPA pelo adsorvente.

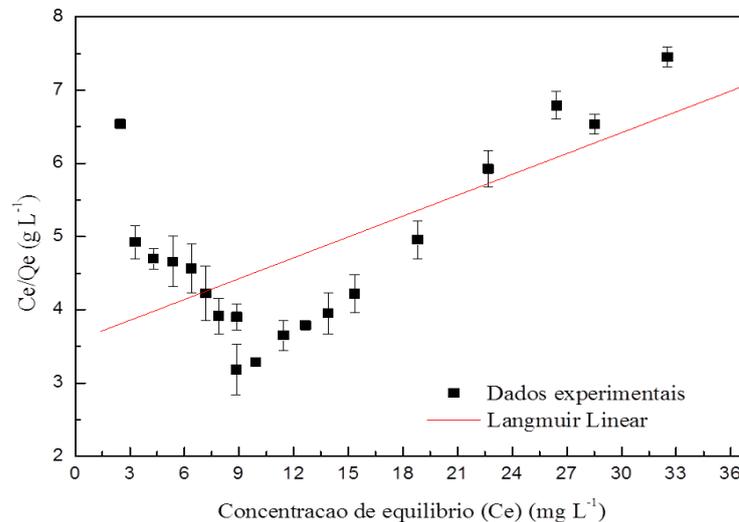
Figura 36 Dados experimentais obtidos para construção das Isoterma de adsorção do MIP-AMPA ($n=2$).



Assim como para o polímero MIP-GF foi aplicado os modelos lineares de Langmuir e de Freundlich, e os modelos não lineares de Langmuir e de Freundlich, Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção e de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção para obter a quantidade máxima de AMPA adsorvida pela quantidade de massa do MIP-AMPA, ou seja, a capacidade máxima de adsorção do material. Os resultados para estes modelos estão apresentados nas Figuras 37 a 42

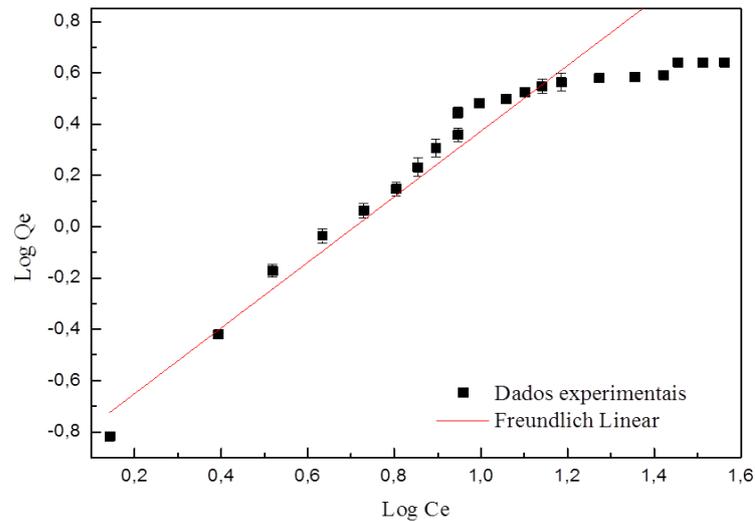
No experimento com o MIP-AMPA, foi obtido um coeficiente de determinação relativamente baixo (R^2 0,1531) para o tratamento isotérmico linear de Langmuir, como pode ser observado na Figura 37.

Figura 37 Isoterma de Langmuir-Linear na adsorção de AMPA no MIP (n =2).



O modelo linear de Freundlich apresentou um ajuste linear mais adequado quando comparado com o modelo linear de Langmuir, com valor de coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9300, como pode ser observado na Figura 38, contudo não representa o melhor ajuste para descrever a isoterma de adsorção do polímero. Este modelo sugere que a superfície do adsorvente é heterogênea o qual decorre o decréscimo de energia de adsorção. Este modelo também sugere que existam dois ou mais sítios de ligação no material (PEREIRA, 2008).

Figura 38 Isoterma de Freundlich-Linear na adsorção de AMPA no MIP (n =2).



As isotermas de Langmuir e Freundlich (Figuras 37 e 38) quando construída com os parâmetros linearizados apresentaram um comportamento inferior em relação às regressões não lineares (Figuras 39 e 40). Contudo, as isotermas não lineares de Langmuir e Freundlich não apresentaram maiores coeficientes de correlações em relação à isoterma de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção.

Figura 39 Isoterma de Langmuir não linear na adsorção de AMPA no MIP.

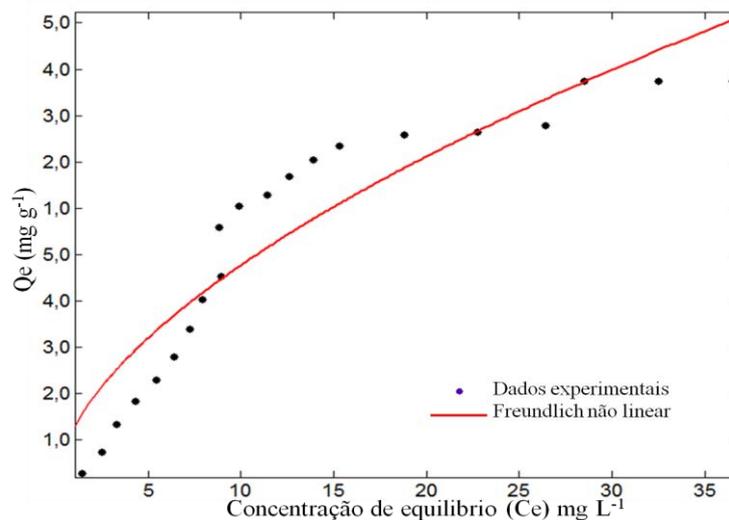
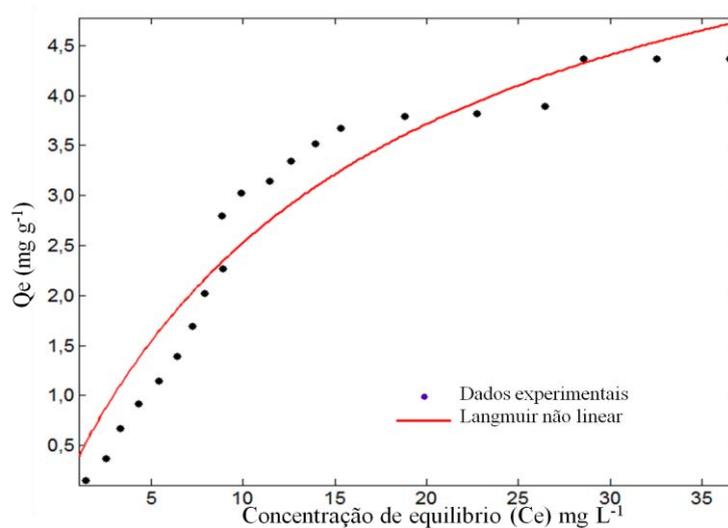
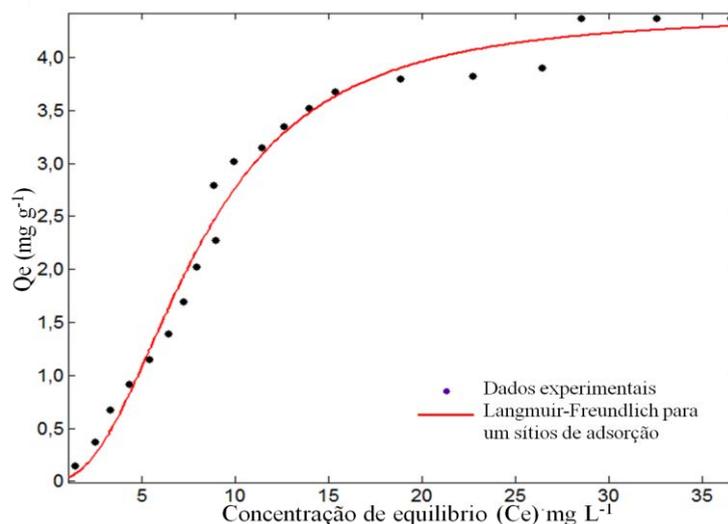


Figura 40 Isoterma de Freundlich não linear na adsorção de AMPA no MIP.



A isoterma de Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção (Figura 41) não apresentou coeficiente de correlação (R^2 0,9836) capacidade máxima de adsorção adequados para descrever o MIP-AMPA.

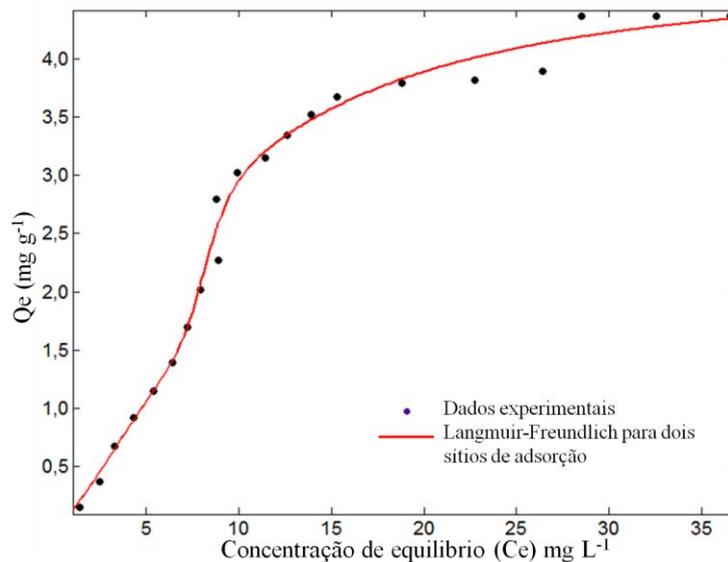
Figura 41 Isoterma de Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção na adsorção de AMPA no MIP.



O modelo que melhor descreve as isotermas de adsorção do MIP-AMPA é o modelo não linear Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção (Figura 42), apresentando coeficiente de correlação (R^2) igual a 0,9916. Este sugere que existam dois sítios de adsorção ativos diferentes, os homogêneos e os heterogêneos para a afinidade com o adsorvato AMPA.

A capacidade adsortiva máxima teórica do polímero impresso para o analito AMPA encontrada com este modelo foi de $4,74 \text{ mg g}^{-1}$, a qual se aproxima da capacidade máxima encontrada experimentalmente, $4,37 \text{ mg g}^{-1}$. Este modelo segue uma combinação empírica de duas equações, Langmuir e Freundlich, onde ocorre uma efetiva redução para baixas concentrações de adsorvato para a isoterma de Freundlich. Em contrapartida, na isoterma de Langmuir as concentrações elevadas de adsorvato prediz uma monocamada característica (OLIVEIRA, *et al.*, 2013).

Figura 42 Isotherma de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção na adsorção de AMPA no MIP.



Na Tabela 10 são apresentadas as equações dos modelos propostos e os valores dos parâmetros que são aplicáveis em cada situação.

Tabela 10 Equações das isotermas de adsorção e estimativas dos parâmetros das isotermas ajustadas com respectivo erro padrão (EP) e coeficiente de determinação R² do MIP-AMPA.

Modelos	Equação	K ₁	K ₂	b ₁	b ₂	n ₁	n ₂	R ²
Linear de Langmuir	$C_{eq} / Q_{eq} = 1 / Kb + C_{eq} / b$	0,0174	-	13,72	-	-	-	0,1531
Linear de Freundlich	$\log Q_{eq} = \log K + 1 / n \log C_{eq}$	0,405	-	-	-	0,78	-	0,9300
Não linear de Langmuir	$Q_{eq} = KbC_{eq} / (1 + KC_{eq})$	0,056	-	7,00	-	-	-	0,9281
Não linear de Freundlich	$Q_{eq} = KC_{eq}^{1/n}$	0,634	-	-	-	0,57	-	0,8707
Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção	$Q_{eq} = b(KC_{eq})^n / 1 + (KC_{eq})^n$	0,125	-	4,41	-	2,38	-	0,9836
Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção	$Q_{eq} = \frac{b_1(K_1C_{eq})^{n_1}}{1 + (K_1C_{eq})^{n_1}} + \frac{b_2(K_2C_{eq})^{n_2}}{1 + (K_2C_{eq})^{n_2}}$	0,121	0,1101	1,07	3,66	12,51	1,52	0,9916

^a Note: K_{1,2} (Langmuir) (L mg⁻¹); K_{1,2} (Freundlich) (mg g⁻¹) (L g⁻¹); b₁ e b₂: quantidade máxima de adsorção (mg g⁻¹); n: constante empírica de Freundlich;

5.6 ESTUDOS DE IMPRESSÃO DOS MIPs

5.6.1 Teste de Seletividade MIP-GF

A fim de avaliar o efeito de impressão nos materiais sintetizados foi realizados estudos de comparação dos MIPs com seus materiais controles (NIPs), conforme mencionando na seção 4.8.

Na Tabela 11 são apresentados os valores obtidos de K_d , k e k' para o glifosato (massa molecular de $169,05 \text{ g mol}^{-1}$) e para o AMPA (massa molecular de $111,04 \text{ g mol}^{-1}$) através dos experimentos de seletividade do MIP-GF a partir dos cálculos descritos na seção 4.8. Foram realizados dois ensaios para cada material, sendo que o primeiro foi realizado utilizando o solvente H_2O e o segundo a mistura de solvente DMSO: Clorofórmio (1:1 v/v).

Observa-se claramente que de acordo com os valores de K_d obtidos para o polímero MIP-GF, o glifosato é melhor adsorvido do que o AMPA para ambos os solventes empregados no ensaio de seletividade, sendo que o mesmo ocorre com seu polímero controle. Os valores de K_d quando são avaliados isoladamente para cada adsorvente não tem a capacidade de inferir que a adsorção do analito de interesse ocorre preferencialmente nos sítios impressos do MIP, pois os polímeros impressos contém sítios não seletivos que são obtidos durante a síntese do adsorvente (ANDRADE, 2010).

Sendo assim, o coeficiente de seletividade é dado pelo k , que é calculado pela razão do $K_{d\text{GF}}/K_{d\text{AMPA}}$. O valor de k encontrado no MIP-GF utilizando o solvente H_2O no ensaio foi de 3,2, e do NIP-GF foi de 1,4. Para o MIP-GF utilizando a mistura de solvente DMSO:clorofórmio (1:1v/v), a razão do $K_{d\text{GF}}/K_{d\text{AMPA}}$ (8,75) que é comparado aos respectivos valores do adsorvente controle NIP-GF (17,0).

Pode-se afirmar que a adsorção do analito de interesse ocorre preferencialmente nos sítios seletivos para o ensaio utilizando água, o mesmo não ocorre com o ensaio utilizando a mistura de solvente de síntese. Já os valores do coeficiente de seletividade relativo (k') revela a magnitude do efeito de impressão obtido do MIP-GF. Deste modo, observa-se que o MIP-GF para o sistema glifosato/AMPA utilizando o solvente água foi 2,2 vezes mais seletivo para o glifosato, quando comparado ao seu polímero controle, NIP-GF. Já o MIP-GF para o sistema glifosato/AMPA utilizando a mistura de solvente DMSO:clorofórmio (1:1v/v) foi somente 0,52 vezes mais seletivo para o analito glifosato, quando comparado ao seu polímero controle, NIP-GF. Assim sendo, é possível inferir que quando se utiliza o solvente de síntese

contendo o analito em contato com o adsorvente, ele diminui a seletividade do polímero pelo analito interesse.

Tabela 11 Parâmetros relacionados ao efeito de impressão (K_d , k , k') do MIP-GF.

Solvente	Adsorvente	Concentração inicial ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)		K_d (L g^{-1})		k	k' MIP/NIP
		glifosato	AMPA	glifosato	AMPA		
Água	MIP-GF	1,0	1,0	0,23	0,07	3,3	2,2
	NIP-GF	1,0	1,0	1,17	0,81	1,4	
DMSO: Clorofórmio (1:1 v/v)	MIP-GF	1,0	1,0	13,24	1,51	8,75	0,5
	NIP-GF	1,0	1,0	36,90	2,17	17,0	

5.6.2 Teste de Seletividade MIP-AMPA

Realizou-se o mesmo estudo de seletividade para o MIP-AMPA a fim de avaliar o efeito de impressão dos materiais sintetizados (seção 4.8). Na tabela 12 estão demonstrados os valores obtidos de K_d , k e k' para o analito AMPA e para o analito glifosato.

Foram realizados dois ensaios para cada material, sendo que o primeiro foi realizado utilizando o solvente H_2O e o segundo a mistura de solvente ACN: H_2O (2:1 v/v).

No ensaio realizado com solvente água, observa-se claramente que quando comparado os valores de K_d obtidos, o polímero MIP-AMPA adsorve mais analito AMPA do que o analito glifosato, o mesmo não ocorre com seu polímero controle. Já com ensaio utilizando os solventes ACN: H_2O (2:1 v/v) observa-se que tanto o MIP-AMPA como o NIP-AMPA apresentam maiores adsorção do analito AMPA do que do analito glifosato, o que pode ser comprovado através do valor de K_d .

O coeficiente de seletividade (k) encontrado para o MIP-AMPA utilizando o solvente H_2O no ensaio, calculado pela razão do $K_d\text{AMPA}/K_d\text{GF}$ (1,14), apresentou-se melhor resultando quando comparado ao respectivo valores do adsorvente controle, NIP-AMPA (0,48). O MIP-AMPA utilizando a mistura de solvente ACN: H_2O (2:1v/v) também apresentou coeficiente de correlação do MIP-AMPA (1,35) maior do que seu polímero controle (1,15).

A adsorção do analito de interesse, portanto, ocorre preferencialmente nos sítios seletivos. Já os valores do coeficiente de seletividade relativo (k') revela a magnitude do efeito de impressão obtido do MIP-GF. Deste modo, pode-se verificar que o MIP-AMPA para

o sistema AMPA/glifosato utilizando a solvente água é 2,4 vezes mais seletivo para o analito AMPA, quando comparado ao seu polímero controle, NIP-AMPA. Já o MIP-AMPA para o sistema AMPA/glifosato utilizando a mistura de solvente ACN: H₂O (2:1v/v) é 1,2 vezes mais seletivo para o analito AMPA, quando comparado ao seu polímero controle, NIP-AMPA.

Tabela 12 Parâmetros relacionados ao efeito de impressão (K_d , k , k') do MIP-AMPA com diferentes estudo de solventes para glifosato e AMPA.

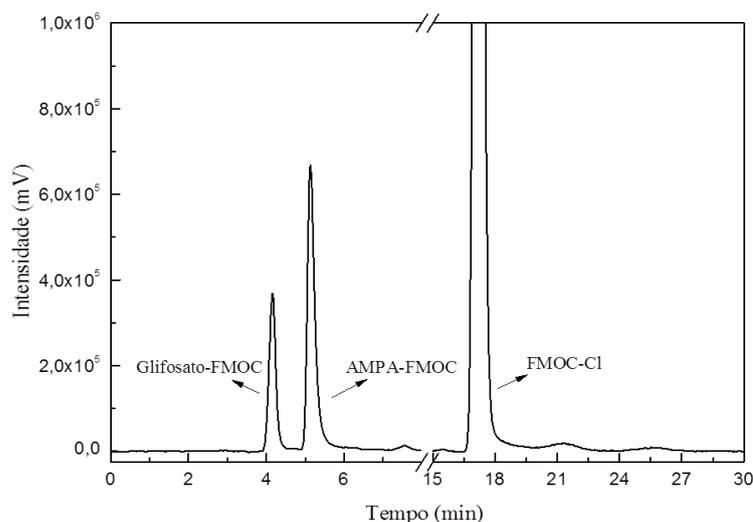
Solvente	Adsorvente	Concentração inicial (mg L ⁻¹)		K_d (L g ⁻¹)		k	k' MIP/NIP
		AMPA	glifosato	AMPA	glifosato		
Água	MIP-AMPA	1,0	1,0	0,07	0,06	1,14	2,4
	NIP-AMPA	1,0	1,0	0,83	1,72	0,48	
ACN: H ₂ O (2:1v/v)	MIP-AMPA	1,0	1,0	0,14	0,10	1,35	1,2
	NIP-AMPA	1,0	1,0	0,10	0,09	1,15	

5.7 MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO VIA HPLC-FD

Devido às dificuldades de reprodutibilidade encontradas no método analítico para determinação de glifosato e AMPA pela técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), outros métodos foram testados. O método de quantificação por derivatização pré-coluna, utilizando a técnica de HPLC-FD já é um método bem estabelecido na literatura, sendo que este foi testado e resultados com boa reprodutibilidade foram obtidos para determinação de glifosato e AMPA. Os dados analíticos se mostraram bem sucedido depois de uma série de testes realizados em laboratório.

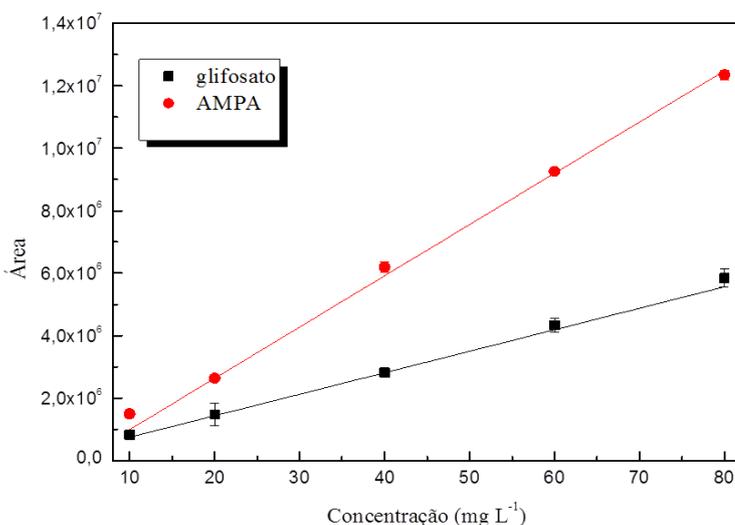
A Figura 43 mostra no detalhe um cromatograma gerado a partir da injeção de um padrão misto contendo os padrões de AMPA e glifosato, respectivamente. O método por HPLC-FD empregado foi segundo Fur *et. al.*, 2000 e detalhes do processo de derivatização, usando o reagente derivatizante FMOC-Cl são apresentados no item 4.9.

Figura 43 No detalhe, cromatogramas gerados a partir das injeções de concentrações de 60 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de glifosato e AMPA.



As concentrações para a construção da curva analítica variaram de 10 a 80 $\mu\text{g L}^{-1}$, tanto para o glifosato como para o AMPA, e os resultados estão representados na Figura 44. A equação da reta obtida para o glifosato foi $y = 20808,64 + 72455,79x$, sendo que esta apresentou um coeficiente de correlação R^2 de 0,9983. Para o AMPA, a equação da reta foi $Y = -242385,01 + 157776,97x$ e coeficiente de correlação R^2 de 0,9961.

Figura 44 Curva analítica obtidos para diferentes concentrações de glifosato e AMPA: 10, 20, 40, 60 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$. Técnica aplicada de HPLC-FD, fase móvel: tampão tetraborato: ACN (55:45), vazão de 0,5 mL min^{-1} ; detecção em 310 nm e excitação em 260 nm.



Foram calculados os LD e LQ relativos de acordo com o método proposto na seção 4.9 item *iii*. Os resultados obtidos de LD e LQ para o glifosato foram $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$, e para o AMPA foram de $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Estes resultados demonstraram que o método está adequado para detecção e quantificação do glifosato, e de seu produto de degradação.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Através deste estudo foram apresentados o preparo, a caracterização e aplicação analítica de dois novos materiais como adsorvente para glifosato e AMPA.

O procedimento de extração utilizando o sistema de Soxhlet se mostrou mais eficiente para remoção do *template* da matriz polimérica do que os sistemas utilizando somente lavagens sucessivas com o *manifold*. Através do teste de recuperação, o MIP-GF sintetizado com os solventes DMSO: Clorofórmio (1:1 v/v) apresentou maior capacidade adsortiva que os outros polímeros sintetizados para o mesmo analito de interesse, a partir deste resultados foram sintetizados os polímeros controles (NIPs) para estudos posteriores. Através dos estudos de caracterização foi possível observar que os materiais apresentaram adequadas propriedades para ser usado como adsorvente.

Foram empregados quatro modelos cinéticos para descrever o mecanismo de adsorção dos analitos glifosato e AMPA sobre a pliacrilamida molecularmente impressa e o melhor ajuste para ambos os materiais foram apresentados para o modelo de pseudo-segunda ordem, a qual sugere um processo de quimissorção, envolvendo dois sítios ativos na superfície do adsorvente. E o modelo de difusão intrapartícula apresentou dois segmentos lineares, o qual indica que ocorre um processo mais lento na camada limitante seguida por um mecanismo de difusão dos analitos para as camadas mais internas do adsorvente. O modelo isotérmico de adsorção que melhor se ajustou para descrever os dados experimentais foi o Langmuir-Freundlich para dois sítios, apresentando uma capacidade máxima de adsorção de 3,03 e 4,74 mg g⁻¹ para o MIP-GF e MIP-AMPA, respectivamente. Ambos os polímeros apresentaram melhor capacidade adsortiva em pH 6,5 e equilíbrio no tempo de reação de 240 minutos.

Ambos os polímeros demonstraram ser um material seletivo, ocorrendo adsorção do analito preferencialmente nos sítios seletivos. O que indica que os materiais sintetizados apresentam características adequadas para ser utilizados como material adsorvente seletivo para o glifosato e AMPA. E em estudos futuros podem ser aplicados como fase sólida molecularmente impressa em métodos analíticos de extração para monitoramento ambiental e ser comparado com técnicas de extração já existentes na literatura.

REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, **NBR 9898**: preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores, Rio de Janeiro, Junho 1987.

ABREU, A.; MATTA, M.; MONTAGNER, E. Desenvolvimento e validação de métodos de análise de Glifosato em grãos de soja. **Química Nova**, n. 31, p. 5-9, 2008.

AL-KINDY, S.; BADIA, R.; SUAREZ-RODRIGUEZ, J. L.; DIAZ-GARCIA, M. E. Molecularly imprinted polymers and optical sensing applications. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 291–309, 2000.

ALMEIDA, G. P. D. **Avaliação de resíduos de glyphosate e AMPA, produtividade, teor de óleo, conteúdo de proteína bruta e aminoácidos na soja (Glycine max (L.) Merrill) resistente ao glyphosate**. 2011. 105 f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, 2011.

AMARANTE JR. O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M. B.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: Propriedades, Toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, p. 589-593, 2002.

ANDRADE, F. N. **Emprego de polímero híbrido poli(vinilimidazol)-sílica impresso ionicamente para pré-concentração de chumbo com posterior determinação por TS-FF-AAS**. 2010. 100 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2010.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.. **Resolução nº899, de 29 de maio de 2003**. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho de 2003. Seção 1, p.56.

ARAÚJO, A. S. F. **Biodegradação, extração e análise de Glifosato em dois tipos de solos**. 2002, 92 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual de São Paulo: São Paulo, 2002.

^aTARLEY C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P.; KUBOTA, L. T. Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 1: Preparo e Aplicações de MIP (“Molecularly imprinted polymers”) em técnicas de extração e separação. **Química Nova**, n. 28, p. 1076-1086, 2005.

BARAHONA, F.; TURIEL, E.; ESTEBAN, A. M.; Molecularly imprinted polymer grafted to porous polyethylene frit: A new selective solid-phase extraction format. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 7065-7070, 2011.

BENETTI, F. **Desenvolvimento e validação de metodologia para determinação Multirresíduo de Glifosato e AMPA via CG-EM em Amostras Ambientais**. 2011. 110 f. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

CACHO, C.; TURIEL, E.; CONDE, C. P. Molecularly imprinted polymers: Na analytical tool for the determination of benzimidazole compounds in water samples. **Talanta**, v.78, p. 1029-1035, 2009.

CORBERA, M.; HIDALGO M.; SALVADO V. Extraction and preconcentration of the herbicide glyphosate and its metabolite AMPA using anion-exchange solid phases. **Microchimica Acta**, v. 153, 203-209, 2006.

CORMACK, P.A.G.; ELORZA, A.Z. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterization. **Journal of Chromatography B**, v. 804, p. 173-182, 2004.

DEBRASSI, A., LARGURA, M. C. T., Rodrigues, C. A., Adsorção do corante vermelho congo por derivados da *o*-carboximetilquitosana hidrofobicamente modificados. **Química Nova**. v. 34, p. 764-770, 2011.

DEDAVID, B. A., GOMES, C. I., MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: Aplicações e preparação de amostras: Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Porto Alegre, RS: EDIPUCRS, 2007.

DIAS, N. M. P.; ALLEONI, L. R.F., CASAGRANDE, J. C., OTÁVIO, A. C.; Isotermas de adsorção de cádmio em solos ácidos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 5, p. 1807-1929, 2001.

DINIZ, K. M., SEGATELLI, M. G., TARLEY, C. R. T. Synthesis and adsorption studies of novel hybrid mesoporous copolymer functionalized with protoporphyrin for batch and on-line solid-phase extraction of Cd²⁺ ions. **Reactive and Functional Polymers**, v. 73, p. 838-846, 2013.

DRUART, C.; DELHOMME, O.; DE VAUFLEURY, A.; NTCHO, E.; MILLET, M. Optimization of extraction procedure and chromatographic separation of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in soil. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 399, p. 1725–1732, 2011.

EBERBACH P.L.; DOUGLAS LA. Method for the determination of glyphosate and (aminomethyl)phosphonic acid in soil using electron-capture gas-chromatography. **Source: Journal Of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, p. 1776-1780, 1991.

FERNANDES, R. **Adsorventes alternativos para remoção de fenol em solução aquosa**. 2005. 96 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis 2005.

GOYAL, R. N.; GUPTA, V. K.; OYAMA, M.; BACHHETI, N. Gold nanoparticles modified indium tin oxide electrode for the simultaneous determination of dopamine and serotonin: Application in pharmaceutical formulations and biological fluids. **Talanta**, v. 72, p. 976–983, 2007.

HAO, C.; MORSE, D.; MORRA, F.; ZHAO, X.; YANG, P.; NUNN, B. Direct aqueous determination of glyphosate and related compounds by liquid chromatography/tandem mass spectrometry using reversed-phase and weak anion-exchange mixed-mode column. **Journal of Chromatography A**, n. 1218, p. 5638-5643, 2011.

HU, Y.; LI, J.; LI, G. Synthesis and application of a novel molecularly imprinted polymer-coated stir bar for microextraction of triazole fungicides in soil. **Journal of Separation Science**, n. 34, p. 1190-1197, 2011.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: Uma abordagem Ambiental**. REBELO, R. M. et al. Brasília: Ibama, 2010. 85 p.

IBÁÑEZ, M.; POZO, O.J.; SANCHO, J.V.; LÓPEZ, F.J.; HERNÁNDEZ, F. Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1081, p. 145-155, 2005.

IBÁÑEZ, M.; POZO, O.J.; SANCHO, J.V.; LÓPEZ, F.J.; HERNÁNDEZ, F. Re-evaluation of glyphosate determination in water by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1134, p. 51-55, 2006.

IEA - Instituto de Economia Agrícola. <http://www.iea.sp.gov.br/out/index.php>. Acessado em 20 de Março 2012.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Coordenação Geral de Acreditação. **Orientação sobre validação de métodos analíticos – DOC CGRE-008**. Brasília, 2010. 20 p.

KATAOKA, H; HORII K; MAKITA M. Determination of the herbicide glyphosate and its metabolite (aminomethyl)phosphonic acid by gas-chromatography with flame photometric detection. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 55, p. 195-198, 1991.

KHROLENKO, M. V.; WIECZOREK, P. P. Determination of glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid in fruit juices using supported-liquid membrane preconcentration method with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. **Journal of Chromatography A**, v. 1093, p. 111-117, 2005.

KOOHPAEI, A. R., SHAHTAHERI, S. J., GANJALI, M. R., RAHIMI-FROUSHANI, A., GOLBABAIEI, F., Molecular imprinted solid phase extraction for trace level determination of atrazine in environmental samples. **Iranian Journal of Environmental Health Science Engineering**, v.5, p. 283-296, 2008.

KUDZIN, Z. H.; GRALAK, D. K.; DRABOWICZ, J.; LUCZAK, J. Novel approach for the simultaneous analysis of glyphosate and its metabolites. **Journal of Chromatography A**, v. 947, p. 129-141, 2002.

KÜSTERS, M.; GERHARTZ, M. Enrichment and low-level determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid and glufosinate in drinking water after cleanup by cation exchange resin. **Journal of Separation Science**, v. 33, p. 1139-1146, 2009.

LAI, J.-P., NIESSNER, R., KNOPP, D., Benzo[a]pyrene imprinted polymers: synthesis, characterization and SPE application in water and coffee samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 522, p. 137-144, 2004.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. Métodos cromatográficos de Análise. 6. ed. Rima, 2004.

LE FUR, E.; COLIN, R.; CHARRÊTEUR, C.; DUFAU, C.; PÉRON, J. J.; Determination of glyphosate herbicide and aminomethylphosphonic acid in natural waters by liquid chromatography using pre-column fluorogenic labeling. Part I: Direct determination at the 0.1 mg/L level using FMOC. **Analisis**, v. 28, p. 813-818, 2000.

LEITE, F. **Validação em análise química**. São Paulo: Átomo, 2008. 357 p.

LIN, T. F.; WU, J. K. Adsorption of arsenite and arsenate within activated alumina grains: equilibrium and kinetics. **Water Research**, v. 35, n.8, p. 2049-2057, 2001.

LIU, Z., LV, Y., GAO, J., LI, X., ZHAI, X., ZHAO, J., XU, X. Molecularly imprinted poly(MAA-co-AM) composite membranes for selective recognition of nicosulfuron herbicide. **Journal Application Polymers Science**, v. 126, p. 1247-1256, 2012.

LV, Y., WANG, L., YANG, L., ZHAO, C., SUN, H. Synthesis and application of molecularly imprinted poly(methacrylic acid)-silica hybrid composite material for selective solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography determination of oxytetracycline residues in milk. **Journal Chromatography A**, v. 1227, p. 48-53, 2012.

MALLAT, E.; BARCELÓ, D. Analysis and degradation study of glyphosate and of aminomethylphosphonic acid in natural waters by means of polymeric and ion-exchange solid-phase extraction columns followed by ion chromatography-post-column derivatization with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 823, n.136, p. 129-136, 1998.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária. e Abastecimento. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT). 2010. Disponível em:

<http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 01 de fevereiro 2014.

MARTINS, I. **Preparo de amostras para análise de fármacos e toxicantes extração em fase sólida**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Alfenas, 2013.

MILES, C. J.; MOYE, H. A. Extraction of Glyphosate Herbicide from soil and Clay Minerals and Determination of Residues in Soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, p. 486-491, 1988.

MORAES, F.; MASCARO, L.H.; Machado, S.A.S.; Brett, C.M.A. Direct Electrochemical Determination of Glyphosate at Copper Phthalocyanine/Multiwalled Carbon Nanotube Film Electrodes. **Electroanalysis**, n. 22, p. 1586-1591, 2010.

MOTOJYUKU, M.; SAITO, T.; AKIEDA, K.; OTSUKA, H.; YAMAMOTO, I.; INOKUCHI, S. Determination of glyphosate, glyphosate metabolites, and glufosinate in human serum by gas chromatography – mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, n. 875, p. 509-514, 2008.

NETO, J. R. M. **Sensor amperométrico a base de um polímero de impressão molecular com protoporfirina IX de ferro para a determinação de 4-aminofenol**. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2010.

OLIVEIRA, T. F., RIBEIRO, E. S., SEGATELLI, M. G., TARLEY, C. R.T. Enhanced sorption of Mn^{2+} ions from aqueous medium by inserting protoporphyrin as a pendant group in poly(vinylpyridine) network. **Chemical Engineering Journal**. n. 221, p. 275–282, 2013.

OLIVEIRA, E. C. **Aplicação da extração em fase sólida na pré-concentração de compostos fenólicos clorados em efluentes de branqueamento de celulose**. 1999. 95 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

PADILHA, A. F.; AMBROZIO FILHO, F. **Técnicas de Análise Microestrutural**. 1. ed. São Paulo, Hemus, 1985.

PATSIAS, J.; PAPADOPOULOU, A.; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Automated trace level determination of glyphosate and aminomethyl phosphonic acid in water by on-line anion-exchange solid-phase extraction followed by cation-exchange liquid chromatography and post-column derivatization. **Journal of Chromatography A**, n. 932, p. 83-90, 2001.

PEREIRA, L. A. **Desenvolvimento de um método de extração em fase sólida molecularmente impressa (MISPE) para a determinação de fenitrotona em tomate**.

2008. 116 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., COLLINS, C.H., JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C., Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

ROYER, A.; BEGUIN, S.; SOCHOR, H., COMMUNAL, P. Y. Determination of Glufosinate Ammonium and Its Metabolite (AE F064619 and AE F061517) Residues in Water by Gas Chromatography with Tandem Mass Spectrometry after Ion Exchange Cleanup and Derivatization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, 2000.

ROYER, B. **Remoção de corantes teteis utilizando casca de semente de Araucaria angustifolia como biossorvente**. 2008. 68 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SÁNCHEZ-BAYO, F.; HYNE, R.V.; Deseille, K.L. An amperometric method for the detection of amitrole, glyphosate and its aminomethyl-phosphonic acid metabolite in environmental waters using passive samplers. **Analytica Chimica Acta**, n. 675, p. 125–131, 2010.

SCHIMEL, D. **Adsorção dos corantes reativos azul 5G e azul turquesa QG em carvão ativado comercial**. 2008. 96 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2008.

SEE, H. H.; HAUSER, P. C.; IBRAHIM, W. A.; SANAGI, M. M. Rapid and direct determination of glyphosate, glufosinate, and aminophosphonic acid by online pre-concentration CE with contactless conductivity detection. **Electrophoresis**, v. 31, p. 575-582, 2010.

SEGATELLI, M. G.; SANTOS, V. S.; PRESOTTO, A. B. T.; YOSHIDA, I. V. P.; TARLEY, C. R. T.; Cadmium ion-selective sorbent preconcentration method using ion imprinted poly(ethylene glycol dimethacrylate-co-vinylimidazole). **Reactive and Functional Polymers**. v.70, p. 325–333, 2010.

SELLERGRÉN, B.; **Molecularly Imprinted Polymers: Man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry**. 1º ed. Elsevier. Nahrung/Food, v. 46, n.1, Mainz, Germany, 2002

SHEN Z. L.; YUAN, D.; SU, Q. D.; ZHANG, H.; WANG, J.; ZHU, J. H.; LIU, Y. M. Selective Solid-Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymer for Analysis of Methamidophos in Water and Soil Sample. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 75, p. 473-479, 2011.

SILVA, D. A.; **Hidrogéis e copolímeros de goma do cajueiro e poliacrilamida**. 2006. 76 f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica). Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2006.

SILVA, E. R. **Desenvolvimento de metodologia de baixo custo para determinação de glifosato usando microdispositivos eletroforéticos fabricados em poliéster-toner**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Química São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. <http://www.sindag.com.br/>. Acessado em 12 de Fevereiro de 2012.

SOUZA, M. D.; BARBOSA, C.M., Polímeros com capacidade de reconhecimento molecular no controlo da libertação de fármacos. Parte 1: síntese e caracterização. **Química Nova**, v. 32, p. 1609-1619, 2009.

SOUZA T. A.; MATTA, M. H. R.; MONTAGNER, É.; Abreu, A. B. G. Estudo de Recuperação de Glifosato e AMPA derivados em solo utilizando-se resinas nacionais. **Química Nova**, n. 29, p. 1372-1376, 2006.

SPIVAK, D.A.; Optimization, evaluation, characterization of molecularly imprinted polymers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 1779-1794, 2005.

STALIKAS, C.D.; KONIDARI, C.N. Analytical methods to determine phosphonic and amino acid group-containing pesticides. **Journal of Chromatography A**, v. 907, p 1-19, 2001.

STALIKAS, C. D., PILIDIS, G. A. Development of a method for simultaneous determination of phosphoric and amino acid group containing pesticides by gas chromatography with mass-selective detection Optimization of the derivatization procedure using an experimental design approach. **Journal of Chromatography A**, v. 872, p. 215-225, 2000.

^bTARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P.; KUBOTA, L. T. Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 2: Aplicações de MIP (“Molecularly imprinted polymers”) no desenvolvimento de sensores químicos. **Química Nova**, v. 28, p. 1087-1101, 2005.

TURIEL, E. ESTEBAN, A. M.; FERNÁNDEZ, P.; CONDE, C. P.; CÁMARA, C. Molecular Recognition in a Propazine-imprinted Polymer and Its Application to the Determination of Triazines in Environmental Samples. **Analytical Chemistry**, v. 73, p. 5133-5141, 2001.

TSUNODA N. Simultaneous determination of the herbicides glyphosate, glufosinate and bialaphos and their metabolites by capillary gas chromatography-ion-trap mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 637, p. 167-173, 1993.

YOSHIOKA, N.; ASANO, M.; KUSE, A.; MITSUHASHI, T.; NAGASAKI, Y.; UENO, Y. Rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos, and their major metabolites in serum by liquid chromatography – tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 3675-3680, 2011.

APÊNDICE

Apêndice

Figura 45 No detalhe, cromatograma obtido a partir da injeção da amostra fortificada extraída do MIP-GF sintetizado com a mistura de solvente DMSO: clorofórmio (1:1 v/v).

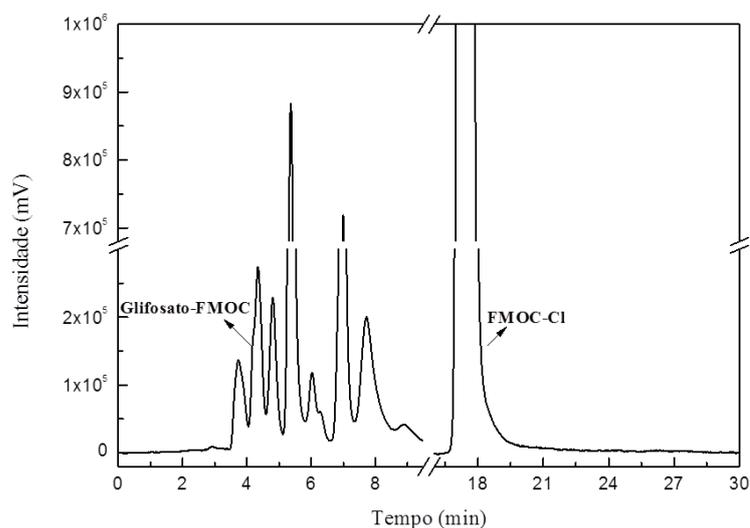


Figura 46 No detalhe, cromatograma obtido a partir da injeção da amostra fortificada extraída do MIP-GF sintetizado com a mistura de solvente H₂O: ACN (1:2 v/v).

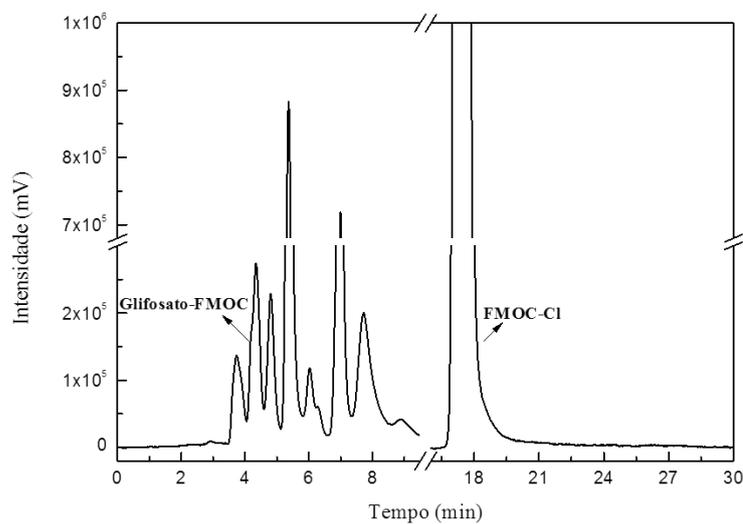


Figura 47 No detalhe, cromatograma obtido a partir da injeção da amostra fortificada extraída do MIP-GF sintetizado com a mistura de solvente H₂O: MeOH (1:2 v/v).

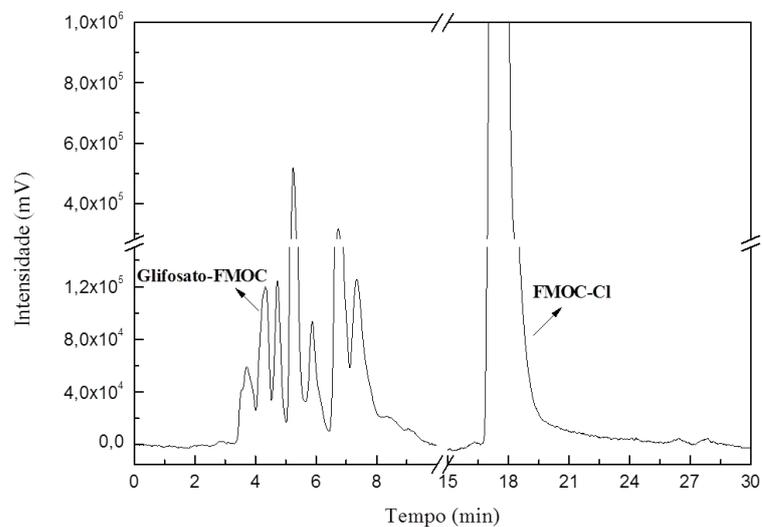


Figura 48 Cromatograma obtido a partir da injeção da amostra fortificada extraída do MIP-AMPA sintetizado com a mistura de solvente H₂O: ACN (1:2 v/v).

