

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

Rafaela Lemes Zendron

Síntese de nanopartículas magnéticas modificadas com MIP para a identificação da
3,4-dicloroanilina através do método cromatográfico e eletroquímico

Araraquara
2023

Rafaela Lemes Zendron

Síntese de nanopartículas magnéticas modificadas com MIP para a identificação da 3,4-dicloroanilina através do método cromatográfico e eletroquímico

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharela em Química.

Orientadora: Maria Del Pilar Taboada Sotomayor

Coorientador: Ademar Wong

Araraquara

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Z54s

Zendron, Rafaela Lemes

Síntese de nanopartículas magnéticas modificadas com MIP para a identificação da 3,4-dicloroanilina através do método cromatográfico e eletroquímico / Rafaela Lemes Zendron. -- Araraquara, 2023
75 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Química) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara

Orientadora: Maria Del Pilar Taboada Sotomayor

Coorientador: Ademar Wong

1. Herbicidas. 2. Cromatografia líquida de alta eficiência. 3. Análise eletroquímica. 4. Impressão molecular. 5. Análise ambiental. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

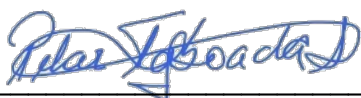
Rafaela Lemes Zendron

Síntese de nanopartículas magnéticas modificadas com MIP para a identificação da 3,4-dicloroanilina através do método cromatográfico e eletroquímico

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharela em Química.

Araraquara, dia 27 de dezembro de 2023.

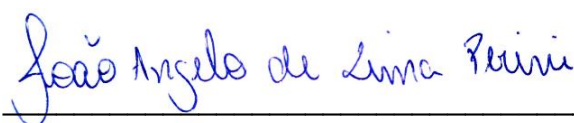
Banca examinadora



Prof^a. Dr^a. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor



Prof^a. Dr^a. Fabíola Manhas Verbi Pereira



Prof. Dr. João Ângelo de Lima Perini

AGRADECIMENTOS

A Deus, por abençoar minha vida e proporcionar a realização de meu sonho pessoal, nunca soltando a minha mão e me dando forças para superar as dificuldades encontradas no decorrer dessa jornada.

Aos meus pais, Renata e Fábio, por todo amor e incentivo dados ao longo da minha vida, e por não medirem esforços para me ajudar durante todo o período da minha graduação.

Ao meu irmão, Davi, por deixar a minha vida mais leve e feliz com a sua presença.

Ao meu namorado, Guilherme, por estar ao meu lado e me acompanhar desde o momento do vestibular até a etapa final da minha graduação. Apesar da distância que nos separava fisicamente, sempre esteve presente. Seu apoio e seu amor foram essenciais para tornar todo meu processo de formação mais leve e tranquilo.

À minha vó Silvia, por me hospedar em sua casa durante toda a minha graduação.

Aos meus sogros, Sueli e Odilon, por todo o suporte e palavras de carinho ditas durante esse período.

À minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor, por me dar a oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa e por proporcionar todo o suporte e incentivo necessários durante a minha iniciação científica.

Ao meu coorientador Dr. Ademar Wong, pela orientação acadêmica, ensinamentos e paciência que teve durante todo o projeto de pesquisa.

A todos os professores que passaram pela minha vida, por todo o ensinamento e contribuição na minha formação pessoal e profissional.

À minha amiga, Angelica, por estar ao meu lado desde o primeiro laboratório da graduação e por ter compartilhado comigo inúmeros momentos de alegria, tristeza e ansiedade durante esse período. Obrigada pelos ensinamentos, pelos momentos de descontração, pelos doces, pelos treinos e pelo companheirismo. Ter você ao meu lado durante toda essa jornada foi muito importante para a minha formação.

Ao meu amigo, Alexandre, por todo ensinamento, pelas caronas e pelas risadas. Sem dúvidas, sua amizade fez a diferença para conseguir superar os últimos anos de graduação.

Aos meus colegas de laboratório, por todo conhecimento transmitido durante a minha iniciação científica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pela concessão da bolsa de iniciação científica (processo 2022/16154-6) e por todo suporte financeiro oferecido.

A todos os especialistas técnicos, pelas análises realizadas e discussões dos resultados, bem como aos funcionários e servidores do Instituto de Química.

Ao Instituto de Química, pela infraestrutura, pelo conhecimento, pela experiência adquirida e por ser a minha casa ao longo desses cinco anos de graduação.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha formação, o meu muito obrigada.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”

(José de Alencar)

RESUMO

Baseando-se no desenvolvimento de métodos analíticos com alta seletividade e sensibilidade, o presente trabalho apresenta a síntese de um polímero molecularmente impresso com caráter magnético (mag-MIP) que será utilizado para identificar e quantificar o metabólito do herbicida diuron, a 3,4-dicloroanilina (3,4-DCA). A síntese de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro foi realizada pelo método de co-precipitação, onde estas foram recobertas com MIP em sua superfície, formando um material híbrido do tipo core@shell. As sínteses do polímero foram realizadas utilizando dois monômeros funcionais diferentes: (I) ácido metacrílico; (II) álcool alílico. Durante os testes de adsorção no HPLC-UV, o polímero sintetizado com o monômero funcional álcool alílico obteve os melhores resultados utilizando as seguintes condições: (I) concentração de 2 ppm de 3,4-DCA; (II) tempo de 90 minutos de adsorção; (III) proporção de solvente 70:30 (v/v) acetonitrila/água e (IV) quantidade de 4 mg de polímero. Realizou-se também a caracterização morfológica dos materiais por microscopia confocal e microscopia eletrônica de varredura (MEV), além da caracterização química através da espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Após comprovação da eficiência do material pelo método cromatográfico, procedeu-se com o desenvolvimento de um sensor eletroquímico utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com o mag-MIP. Os estudos iniciais permitiram identificar que a melhor técnica eletroanalítica para monitorar a 3,4-DCA foi a voltametria de onda quadrada (VOQ). No processo de otimização, analisou-se diferentes soluções eletrolíticas, sendo a solução fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5 a escolhida para proceder com as análises eletroquímicas. Nas condições otimizadas, a curva de calibração do sensor proposto apresentou uma resposta linear entre $5,0 \times 10^{-7} - 1,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de detecção de $8,9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. Um estudo de repetibilidade contendo várias medidas eletroquímicas do sensor modificado com mag-MIP foi feito a fim de verificar sua confiabilidade na detecção da 3,4-DCA. Também foi realizado um estudo de interferentes utilizando as proporções molares 1:1; 1:10 e 10:1 (analito e interferente, respectivamente). Os interferentes testados foram etinilestradiol, 2,4D, diuron, carbofurano, glifosato, captopril, tartrazina, Cd (II) e Pb (IV). Com isso, verificou-se que no teste de repetibilidade foi obtido um desvio padrão relativo (RSD) de apenas 0,80% e no teste de interferentes nenhum dos compostos analisados afetaram significativamente o sinal eletroquímico da 3,4-DCA.

Por fim, o sensor foi testado em amostras ambientais, e os resultados obtidos nas análises de recuperação foram próximos a 100%, indicando que não houve efeito de matriz nem influência de qualquer substância química na resposta eletroquímica do sensor. Ademais, observou-se que resultados obtidos com o método proposto estão de acordo com os valores obtidos pelo método comparativo (HPLC-UV), demonstrando assim a viabilidade do sensor no monitoramento da 3,4-DCA.

Palavras-chaves: 3,4-dicloroanilina; HPLC-UV; sensor eletroquímico; MIP magnético; amostras ambientais.

ABSTRACT

Based on the development of analytical methods with high selectivity and sensitivity, the present work presents the characteristics of a molecularly imprinted polymer with magnetic character (mag-MIP) that will be used to identify and quantify the metabolite of the herbicide diuron, at 3,4 -dichloroaniline (3,4-DCA). The synthesis of magnetic iron oxide nanoparticles was carried out using the co-precipitation method, where they were discovered with MIP on their surface, forming a core@shell hybrid material. The polymer syntheses were carried out using two different functional monomers: (I) methacrylic acid; (II) allyl alcohol. During HPLC-UV adsorption tests, the polymer synthesized with the allyl alcohol functional monomer obtained the best results using the following conditions: (I) concentration of 2 ppm of 3,4-DCA; (II) adsorption time of 90 minutes; (III) solvent ratio 70:30 (v/v) acetonitrile/water and (IV) amount of 4 mg of polymer. The morphological characterization of the materials was also carried out using confocal microscopy and scanning electron microscopy (SEM), in addition to chemical characterization using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). After proving the efficiency of the material using the chromatographic method, proceed with the development of an electrochemical sensor using a modified carbon paste electrode such as mag-MIP. Initial studies identified that the best electroanalytical technique to monitor 3,4-DCA was square wave voltammetry (SWV). In the optimization process, different electrolyte solutions were analyzed, with the 0,1 mol L⁻¹ phosphate solution at pH 5 being chosen to carry out the electrochemical analyses. Under optimized conditions, the calibration curve of the proposed sensor presented a linear response between $5,0 \times 10^{-7} - 1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ and a detection limit of $8,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. A repeatability study containing several electrochemical measurements of the mag-MIP modified sensor was carried out in order to verify its reliability in detecting 3,4-DCA. An interferent study was also carried out using molar ratios 1:1, 1:10 and 10:1 (analyte and interferent, respectively). The interferents tested were ethinyl estradiol, 2,4D, diuron, carbofuran, glyphosate, captopril, tartrazine, Cd (II) and Pb (IV). As a result, it was found that in the repeatability test a relative standard deviation (RSD) of only 0,80% was obtained and in the interference test none of the compounds analyzed significantly affected the electrochemical signal of 3,4-DCA. Finally, the sensor was tested on environmental samples, and the results obtained in the recovery analyzes were close to 100%, indicating that there was no matrix effect or influence of any

chemical substance on the electrochemical response of the sensor. Furthermore, it was observed that results obtained with the proposed method are in agreement with the values obtained by the comparative method (HPLC-UV), thus demonstrating the feasibility of the sensor in monitoring 3,4-DCA.

Keywords: 3,4-dichloroaniline; HPLC-UV; electrochemical sensor; magnetic MIP; environmental samples.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Índice de crescimento do consumo de pesticidas no Brasil entre os anos de 2011 a 2021.	18
Figura 2: Mecanismo de degradação do diuron.	21
Figura 3: Representação esquemática do processo de impressão molecular.	23
Figura 4: Esquema de funcionamento de um sensor químico.....	24
Figura 5: Imagem representativa de um potenciostato contendo uma cela eletroquímica composta por três eletrodos.....	30
Figura 6: Esquema da síntese da pasta de carbono modificada.....	40
Figura 7: Simulação computacional do analito com diferentes monômeros funcionais utilizando acetonitrila como meio de interação.....	41
Figura 8: Simulação computacional do analito com diferentes monômeros funcionais utilizando metanol como meio de interação.	42
Figura 9: Quantidade de analito presente em cada lavagem do material sintetizado. (A) Lavagem a quente; (B) Lavagem em temperatura ambiente.....	43
Figura 10: Curva de calibração da 3,4-DCA. (A) Cromatograma; (B) Curva analítica.	44
Figura 11: Cromatogramas do ensaio de adsorção dos testes de proporção de solvente em uma concentração de 2 ppm de 3,4-DCA.	45
Figura 12: Cromatograma dos ensaios de adsorção (A) 2 ppm de 3,4-DCA; (B) 10 ppm de 3,4-DCA.....	46
Figura 13: Estudo de adsorção de mag-MIP e mag-NIP utilizando o método cromatográfico.....	47
Figura 14: Ensaio de adsorção de mag-MIP e mag-NIP para duas concentrações de 3,4-DCA (A) 2ppm e (B) 5ppm.	48
Figura 15: Ensaio de adsorção de mag-MIP e mag-NIP para as diferentes proporções de solventes (A) 100% água; (B) 100% acetonitrila; (C) 70:30 acetonitrila/água (v/v); (D) 50:50 acetonitrila/água (v/v) e (E) 30:70 acetonitrila/água (v/v).	50
Figura 16: Ensaio de adsorção de mag-MIP e mag-NIP para proporções variadas de massa de polímero (A) 4 mg; (B) 8 mg; (C) 10 mg e (D) 12mg.....	52
Figura 17: Molécula de 3,4-DCA.	56

Figura 18: Espectro de IV para a 3,4-DCA.....	56
Figura 19: Espectro comparativo entre mag-MIP e as nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C=C}$	58
Figura 20: Molécula do monômero estrutural EGDMA.....	59
Figura 21: Espectro de IV dos polímeros sintetizados (mag-MIP e mag-NIP).....	59
Figura 22: Voltamograma cíclico contendo (A) tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7 como eletrólito suporte; (B) KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte.....	61
Figura 23: Comparação entre as técnicas eletroanalíticas VOQ e VDP contendo a solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e uma concentração de $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. (A) Valores da corrente de pico; (B) Valores das médias e seus respectivos desvios das medidas realizadas em triplicata. Condições da VOQ: $A= 75 \text{ mV}$, $\Delta E= 5\text{mV}$ e $f= 15 \text{ Hz}$	62
Figura 24: Estudo de otimização da pasta de carbono modificada com mag-MIP feita através da VOQ, contendo tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e uma concentração de $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. Condições da VOQ: $A= 75 \text{ mV}$, $\Delta E= 5\text{mV}$ e $f= 15 \text{ Hz}$	63
Figura 25: Voltamograma de onda quadrada da pasta de carbono modificada nas condições otimizadas em uma concentração de $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. (I) 70 mg de pó de grafite + 30 mg de mag-NIP; (II) 70 mg de pó de grafite + 30 mg de mag-NIP. Condições da VOQ: $A= 75 \text{ mV}$, $\Delta E= 5\text{mV}$ e $f= 15 \text{ Hz}$	64
Figura 26: Voltamograma de onda quadrada contendo a solução fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pH em uma concentração de $9,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. Condições da VOQ: $A= 75 \text{ mV}$, $\Delta E= 5\text{mV}$ e $f= 15 \text{ Hz}$	65
Figura 27: Estudo da resposta do sensor em diferentes valores de pH contendo os valores médios e seus respectivos desvios atribuídos. Condições da VOQ: $A= 75 \text{ mV}$, $\Delta E= 5\text{mV}$ e $f= 15 \text{ Hz}$	66
Figura 28: (A) Voltamograma de onda quadrada do sensor proposto em diferentes concentrações de 3,4-DCA, utilizando como eletrólito suporte solução fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5,0; (B) Curva analítica. Condições da VOQ: $A= 75 \text{ mV}$, $\Delta E= 5\text{mV}$ e $f= 15 \text{ Hz}$	67
Figura 29: Estudo de repetibilidade do sensor modificado com mag-MIP frente à uma concentração de $4,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. Condições da VOQ: $A= 75 \text{ mV}$, $\Delta E= 5\text{mV}$ e $f= 15 \text{ Hz}$	68

LISTA DE IMAGENS

Imagem 1: HPLC utilizado para realizar as medidas cromatográficas.	29
Imagem 2: (A) Produto da etapa 1 da síntese das nanopartículas magnéticas, Fe_3O_4 ; (B) Fe_3O_4 sendo submetida a um campo magnético externo.....	32
Imagem 3: (A) Produto da etapa 2 da síntese das nanopartículas magnéticas, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$; (B) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ sendo submetida a um campo magnético externo. .	33
Imagem 4: (A) Produto da etapa 3 da síntese das nanopartículas magnéticas ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C=C}$); (B) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C=C}$ sendo submetida a um campo magnético externo.	34
Imagem 5: (A) Etapa final da síntese de mag-NIP e mag-MIP; (B) Adaptação de ponteira para saída de fluxo de N_2	35
Imagem 6: (A) Sistema soxhlet para a lavagem a quente dos polímeros; (B) Sistema de lavagem do mag-MIP e mag-NIP em temperatura ambiente.	37
Imagem 7: (A) Produto da síntese do mag-MIP e mag-NIP; (B) mag-MIP e mag-NIP submetidos a um campo magnético externo.	38
Imagem 8: Homogeneizador utilizado nos ensaios de adsorção.....	39
Imagem 9: Imagem topográfica de mag-MIP (A) e (C); e mag-NIP (B) e (D).	53
Imagem 10: Imagens MEV das nanopartículas magnéticas de ferro sintetizadas (A) e histograma (B).	54
Imagem 11: Micrografia dos polímeros sintetizados (A) mag-MIP e (B) mag-NIP....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIBN	2-2'-azo-bis-(2-metilpropionitrila)
DFT	Density Functional Theory (Teoria Funcional da Densidade)
EGDMA	Etileno-glicol-dimetacrilato
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)
FEG-SEM	Field Emission Gun Scanning Electron Microscopy
FTIR	Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier)
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE)
IR	Iniciador radicalar
IV	Infravermelho
Mag-MIP	Polímero magnético molecularmente impresso
Mag-NIP	Polímero magnético não impresso
ME	Monômero estrutural
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MF	Monômero funcional
MIP	Molecularly Imprinted Polymer (Polímero Molecularmente Impresso)
MM	Molécula molde
MPS	3-metacriloxipropiltrimetoxisilano
NIP	Non-Imprinted Polymer (Polímero Não-Impresso)
RSD	Relative Standard Deviation (Desvio Padrão Relativo)
TEOS	Tetraethyl orthosilicate (Ortossilicato de tetraetila)
UV-Vis	Ultravioleta na região do visível
VC	Voltametria cíclica
VOQ	Voltametria de onda quadrada
VPD	Voltametria de pulso diferencial
3,4-DCA	3,4-dicloroanilina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Pesticidas	18
1.2. Diuron	19
1.3. Polímero molecularmente impresso (Molecularly Imprinted Polymer - MIP)	21
1.4. Sensores químicos	23
1.4.1. Sensores eletroquímicos	24
2. OBJETIVOS	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1 Reagentes e soluções	27
3.2. Instrumentação	27
3.2.1. Análises cromatográficas	28
3.2.2. Análises eletroquímicas	29
3.3. Simulação computação do método quântico por DFT (Teoria Funcional da Densidade)	30
3.4. Síntese de nanopartículas magnéticas	31
3.4.1. Etapa 1: Síntese das nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4)	31
3.4.2. Etapa 2: Recobrimento das nanopartículas de magnetita com sílica ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$)	32
3.4.3. Etapa 3: Funcionalização das nanopartículas com MPS ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C}=\text{C}$)	33
3.5. Síntese dos polímeros mag-MIP e mag-NIP	34
3.6. Testes de adsorção	38
3.7. Síntese da pasta de carbono modificada	39
3.8. Preparação das amostras ambientais	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1. Simulação computacional	41
4.2. Lavagem dos polímeros	43
4.3. Curva de calibração	44
4.4. Material sintetizado com o monômero funcional ácido metacrílico	45
4.4.1. Teste de proporção de solvente	45
4.4.2. Teste de adsorção	46
4.5. Material sintetizado com o monômero funcional álcool alílico	47

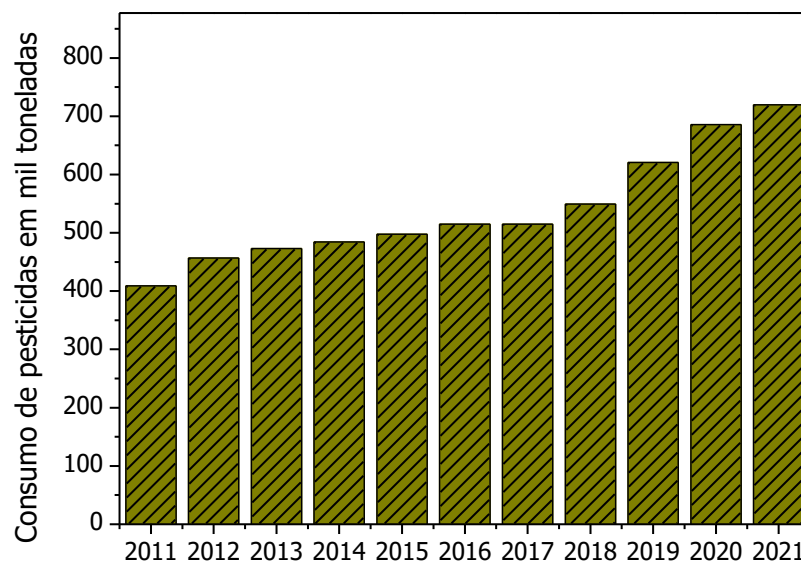
4.5.1. Teste de adsorção preliminar.....	47
4.5.2. Otimização dos parâmetros de adsorção.....	48
4.5.2.1. Estudo de concentração	48
4.5.2.2. Estudo de tempo de adsorção	49
4.5.2.3. Estudo da proporção de solvente.....	49
4.5.2.4. Estudo de massa	51
4.6. Caracterização morfológica dos materiais.....	53
4.6.1. Análise por microscopia confocal.....	53
4.6.2. Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	54
4.6.3. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	56
4.7. Desenvolvimento do sensor eletroquímico.....	60
4.7.1. Detecção eletroquímica da 3,4-DCA.....	60
4.7.2. Otimização da resposta do sensor	62
4.7.3. Influência do pH na voltametria de onda quadrada (VOQ)	64
4.7.4. Curva de calibração do sensor eletroquímico modificado com mag-MIP.....	66
4.7.5. Estudo de repetibilidade.....	67
4.7.6. Estudo de interferentes	68
4.7.7. Aplicação do sensor em amostras reais	69
5. CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS.....	72

1. INTRODUÇÃO

1.1. Pesticidas

Devido às suas terras aráveis, clima tropical e recursos hídricos abundantes, o Brasil é um dos maiores produtores agrícolas e pecuários do mundo, com o agronegócio focado no comércio global. Como resultado, o país emergiu no cenário internacional como sendo o maior consumidor de pesticidas no ano de 2021, tendo um crescimento no consumo de 76% entre os períodos de 2011 a 2021 (Figura 1), de acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO)¹.

Figura 1: Índice de crescimento do consumo de pesticidas no Brasil entre os anos de 2011 a 2021.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

No entanto, apesar de todas as advertências sobre o perigo da disseminação do uso de agrotóxicos, o Brasil não adota medidas severas de precaução e mantém liberadas substâncias que são sabidamente proibidas em outros países ^{2,3}.

A presença potencial de alguns pesticidas e seus produtos de degradação causam sérios impactos na saúde da população bem como na saúde ambiental. Sabe-se que essas substâncias podem contaminar a cadeia alimentar, contribuir para a

bioampliação, ser fonte de efeitos adversos para a saúde, impactar negativamente as comunidades microbianas e migrar para outras áreas ambientais, como a água, através de mecanismos como a lixiviação e o escoamento⁴. A toxicidade aguda dos pesticidas é pouco preocupante para os seres humanos, porém, a exposição a longo prazo é um problema crescente para o público em geral, e, principalmente, para os trabalhadores envolvidos nos procedimentos de pulverização e no manuseamento dos pesticidas, afetando não somente a saúde mental da população, pois eleva as taxas de incidência de depressão, ansiedade e suicídio^{5,6}, mas também prejudicando a saúde física, uma vez que diversos estudos evidenciam a correlação entre pesticidas e doenças como leucemia, lesões no fígado, pele e pulmão, alergias e algumas alterações hormonais e neurológicas⁷.

Dessa maneira, programas e equipamentos de monitoramento para detecção e quantificação de pesticidas e seus metabólitos são essenciais para reduzir seus potenciais impactos negativos no ambiente e na saúde humana, melhorando assim a eficiência global e a sustentabilidade.

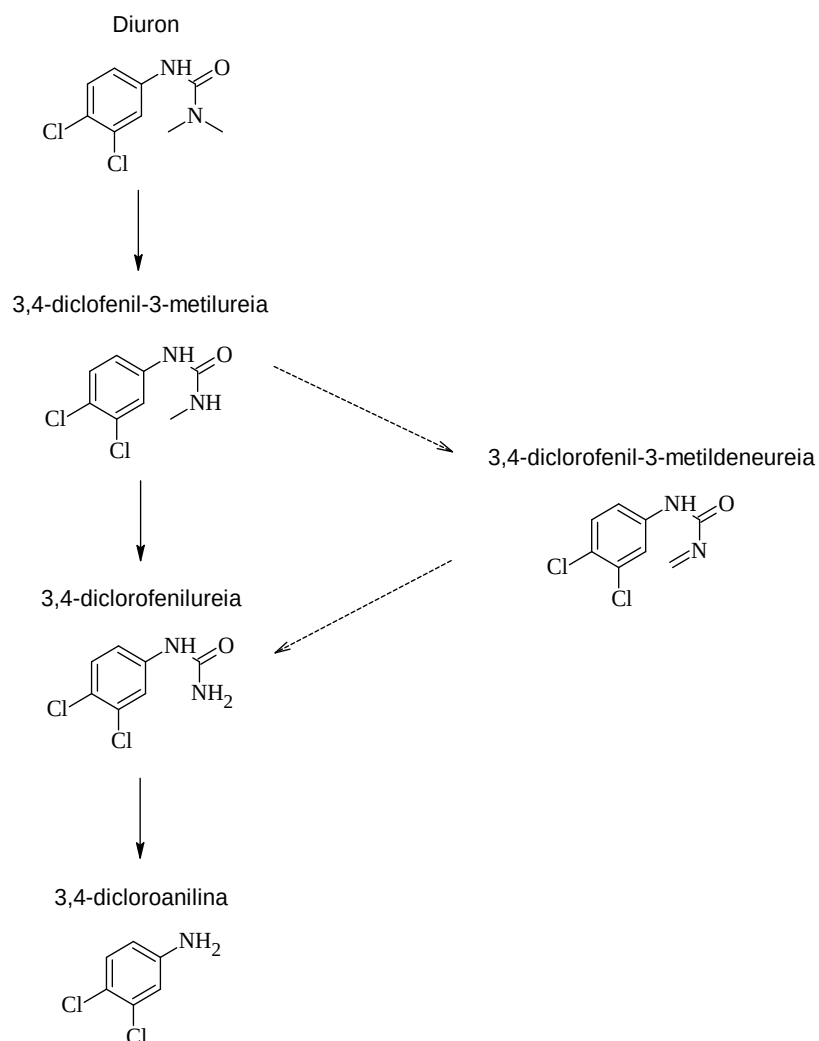
1.2. Diuron

A substância 3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilureia, conhecida comercialmente como diuron, é um herbicida sistêmico utilizado no controle de plantas daninhas de folhas largas e estreitas, sendo indicado principalmente para as culturas de algodão, café, cana-de-açúcar e citros⁸. Esse herbicida do grupo das feniluréias, atua diretamente como inibidor do fotossistema II, interrompendo o fluxo normal dos elétrons que permitem a geração do potencial de membrana e o armazenamento de energia química pelas células, afetando a atividade das plantas, das algas e das cianobactérias⁹.

No Brasil, o diuron se classificou como o 11º ingrediente ativo mais vendido entre os períodos de 2019 a 2022, segundo estudos realizados pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis)¹⁰. No entanto, sabe-se que esse herbicida é considerado ligeiramente tóxico para mamíferos e aves, e, moderadamente tóxico para invertebrados aquáticos, sendo geralmente persistente no solo, com meia-vida de 320-330 dias, podendo atingir, portanto, corpos d'água por lixiviação ou escoamento superficial¹¹.

O principal produto de degradação desse herbicida, a 3,4-dicloroanilina (3,4-DCA), apresenta maior toxicidade e maior persistência no solo e nas águas quando comparado com seu próprio precursor, acumulando-se em níveis perigosos (cerca de $0,68 \mu\text{g L}^{-1}$ para água doce e $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ para água do mar) no meio ambiente, causando sérios risco à saúde de mamíferos, incluindo humanos, e de espécies aquáticas¹². Estudos mostraram que a exposição prolongada desse metabólito pode gerar interferência no controle do ciclo celular e nos processos metabólicos, causando alterações na frequência cardíaca e impactos endocrinológicos irreversíveis¹³.

Em vista disso, a busca por materiais com elevada especificidade e seletividade em detectar e quantificar a 3,4-DCA no ambiente tem se tornado urgente e essencial. Nesse contexto, merecem destaque os polímeros molecularmente impressos.

Figura 2: Mecanismo de degradação do diuron.

Fonte: elaborado pela Autora (2023).

1.3. Polímero molecularmente impresso (Molecularly Imprinted Polymer - MIP)

Polímeros molecularmente impressos são materiais com estruturas poliméricas que apresentam regiões ou cavidades específicas cujo tamanho, formato e grupos funcionais correspondem a uma molécula de interesse específico. Normalmente, essas cavidades são criadas durante o processo de polimerização, onde o analito é impresso na matriz polimérica e depois removido por meio de etapas de dessorção. Uma vez que estas cavidades são baseadas em moléculas específicas, as cavidades impressas possuem afinidades de ligação para o analito de interesse¹⁴. Por esse

motivo, os MIPs possuem elevada seletividade e sensibilidade de detecção, atraindo grande interesse por parte dos pesquisadores.

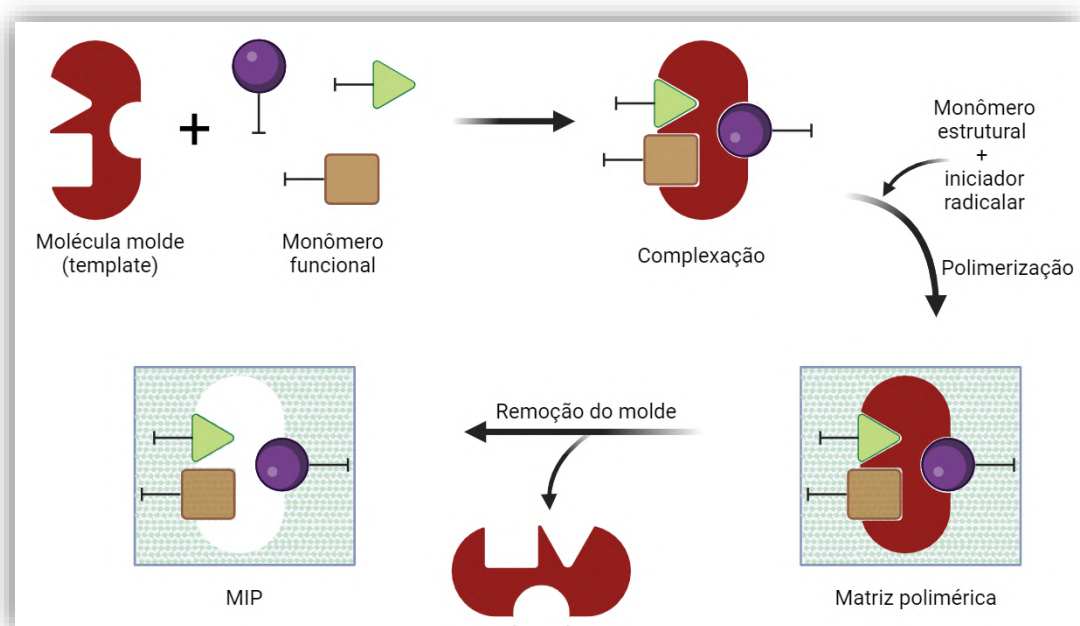
Tradicionalmente, o MIP tem sido sintetizado utilizando a polimerização em “*bulk*”, na qual a reação ocorre em um sistema homogêneo. A reação é realizada em frascos selados contendo monômeros, analitos, solventes, reticulantes e iniciadores radicalares. A reação ocorre sob uma corrente de nitrogênio ou argônio, ou seja, na ausência de oxigênio, e é aquecida e/ou sofre radiação UV. Por fim, os sólidos poliméricos resultantes são moídos, peneirados e lavados com solvente para extrair os analitos¹⁵. Embora o método de polimerização em massa seja simples, os polímeros apresentam partículas de formatos e tamanhos irregulares entre 20 e 50 µm. Outra desvantagem desse método é que o tempo de reação é longo e alguns sítios seletivos formados durante o processo de síntese são parcialmente destruídos, reduzindo assim a seletividade do material^{16,17}.

Devido às deficiências de abordagem apresentada pelo método tradicional, novos métodos de preparação de MIP foram relatados na literatura com o objetivo de produzir partículas com tamanhos mais uniformes. A maioria dos novos métodos emprega reações em sistemas heterogêneos, como polimerização em suspensão, polimerização por precipitação e polimerização por expansão em múltiplas etapas. Além disso, existem outros métodos de preparação, incluindo polimerização dentro dos poros de sólidos, como sílicas e resina, além da polimerização em superfícies modificadas¹⁷. Sendo assim, é importante ressaltar que a aplicabilidade dos MIPs em diferentes segmentos da química analítica faz com que os procedimentos de preparo sejam dependentes das características das técnicas em que serão utilizados. Portanto, o preparo de um MIP visando seu uso para modificação de eletrodos pode vir a ser diferente daquele em que o MIP é utilizado em técnicas de separação ou preparo de amostra, por exemplo¹⁸.

Ademais, vale ressaltar que a vantagem mais importante dos MIPs é nas aplicações de detecção devido ao seu “design molecular” ou especificidade de impressão. O processo de polimerização e a estrutura dos MIPs não estão limitados a um tipo de molécula, como proteínas ou medicamentos. Uma variedade de monômeros pode ser usada e personalizada de acordo com as necessidades¹⁹. A seleção de monômeros e reticulantes durante a síntese desempenha um papel

crucial no desempenho dos MIPs. O monômero tem interações complementares com a molécula alvo e a influência das interações covalentes e não covalentes entre os monômeros da molécula alvo e os grupos funcionais melhora significativamente a seletividade e a sensibilidade do MIP. Além disso, o tipo e a quantidade de reticulador também podem afetar a seletividade²⁰. Outras vantagens dos MIPs incluem simplicidade, velocidade, baixo custo e baixos limites de detecção, tornando-o adequado para a detecção de analitos específicos^{15,16}. Além disso, os MIPs podem ser usados em diferentes áreas, como sensores, monitoramento de biomarcadores, análise e sistema de administração de medicamentos, análise de alimentos e ambiental, marcadores biomédicos e detecção de patógenos^{21,22,23}.

Figura 3: Representação esquemática do processo de impressão molecular.



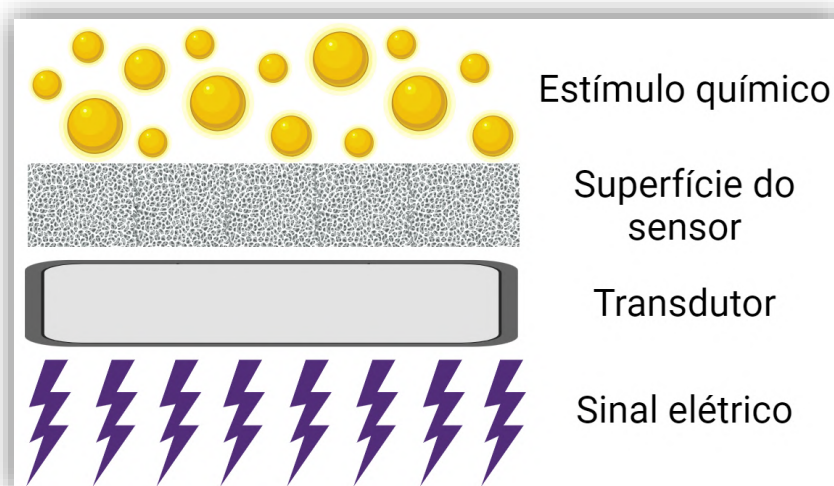
Fonte: elaborado pela Autora (2023).

1.4. Sensores químicos

Em princípio, os sensores químicos reconhecem seletivamente a substância em estudo. Em seguida, identifica a substância emitindo uma resposta na forma de um sinal elétrico. Para essa resposta, os sensores químicos utilizam um transdutor, dispositivo que interage de forma físico-química com a substância analisada. A base

do sinal elétrico do sensor vem, portanto, da interação da superfície do transdutor com a substância pura ou suas variações (Figura 4). Sendo assim, vale ressaltar que uma das principais classificações dos sensores químicos depende diretamente da interação sensor e substância²⁴.

Figura 4: Esquema de funcionamento de um sensor químico.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Sabe-se que existem muitos tipos diferentes de sensores químicos, cada um com seu mecanismo de detecção específico. Por exemplo, alguns sensores químicos utilizam alterações no índice de refração ou na massa dos materiais para responder à presença de produtos químicos específicos. Já outros utilizam reações eletroquímicas para medir a concentração de espécies de interesse²⁴, como é o caso dos sensores eletroquímicos.

1.4.1. Sensores eletroquímicos

Atualmente, os sensores eletroquímicos são considerados os melhores candidatos como ferramentas de detecção e quantificação, fornecendo métodos baratos, rápidos, fáceis de usar, confiáveis e sensíveis para detectar compostos-alvo em matrizes complexas, além de permitir a obtenção de informações *in situ* e em tempo

real, possuindo vantagem referente à portabilidade, facilidade de automação e possibilidade de miniaturização²⁵. Além disso, geralmente apresentam sistemas mais compactos em comparação com outras técnicas analíticas de detecção tradicional, como cromatografia gasosa (GC) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)²⁶. Entre os vários eletrodos utilizados em sensores eletroquímicos, os eletrodos de pasta de carbono têm um futuro promissor devido às suas excelentes propriedades, como resistência ôhmica extremamente baixa, fácil modificação e renovação da superfície²⁷.

Os eletrodos quimicamente modificados são eletrodos modificados com espécies quimicamente ativas, resultantes da imobilização de um agente modificador sobre a superfície de um eletrodo base, tendo como função pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução para alterar a reatividade e seletividade do sensor base, proporcionando o desenvolvimento de eletrodos para vários propósitos e aplicações²⁸. Dentre as diferentes modificações que podem ser aplicadas a esses eletrodos, os polímeros de impressão molecular (MIPs) se mostraram muito promissores. Os MIPs provaram ser materiais confiáveis e econômicos para aplicações seletivas baseadas em estrutura, como separação, análise e limpeza de matrizes²⁹. Considerando este fato, muitos estudos investigaram eletrodos de carbono modificados com MIP, como óxido de grafeno, nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs), eletrodos de carbono vítreo e eletrodo de pasta de carbono. Estes eletrodos fornecem excelente condutividade, grande área superficial e estabilidade mecânica enquanto MIPs fornecem a seletividade do dispositivo³⁰.

De maneira geral, os sensores modificados com MIP podem ser aplicados em várias áreas, uma vez que estes proporcionam análises rápidas, seletivas, com uma ampla faixa linear de trabalho e baixos limites de detecção. Sendo assim, evidenciam-se que as tecnologias de polímeros impressos molecularmente oferecem uma nova ferramenta na procura de sensores químicos mais seletivos, estáveis e sensíveis, e podem ser uma alternativa viável quando comparados com outros modificadores e com outras técnicas convencionais usualmente empregados.

2. OBJETIVOS

Sintetizar um polímero magnético molecularmente impresso (mag-MIP) capaz de detectar seletivamente o metabólito 3,4-DCA do herbicida diuron em amostras ambientais utilizando métodos cromatográficos e eletroquímicos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e soluções

Para a síntese das nanopartículas magnéticas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C}=\text{C}$ foram utilizados os reagentes $\text{FeCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$, NH_4OH 28-30%, tetraetoxisilano (TEOS) 98%, 3-metacriloxipropiltrimetoxisilano (MPS) 98%, todos da Sigma-Aldrich®. Além de HCl 37% PA/ACS da Neon Comercial Ltda, tolueno da *Qhemis High Purity*® e etanol da Êxodo Científica Ltda.

Para a síntese dos MIPS, utilizou-se 3,4-DCA, álcool alílico, ácido metacrílico, azobisisobutironitrila (AIBN) 98% e etileno-glicoldimetacrilato (EGDMA) 98%, todos da Sigma-Aldrich®. A lavagem do material foi feita com etanol proveniente da Êxodo Científica Ltda e ácido acético glacial 99,8% PA da Neon Comercial Ltda.

O preparo da solução tampão fosfato foi feito a partir do fosfato de potássio monobásico anidro e fosfato de potássio bibásico anidro da Sigma-Aldrich®. Já o ajuste do valor de pH foi feito a partir de HCl 37% PA/ACS da Neon Comercial Ltda e de NaOH 28-30% da Sigma-Aldrich®.

O estudo de seletividade do material foi realizado a partir dos reagentes 17- α etinilestradiol (EE2), captopril, 2-D, glifosato, diuron, carbofurano, tartrazina, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2.4\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, todos da Sigma-Aldrich®.

Ademais, quando necessário, utilizou-se água ultrapura (resistividade $\geq 18 \text{ M}\Omega$ a 25 °C) obtida de um sistema de purificação Milli-Q® (Direct-0,3) e acetonitrila da Honeywell International Inc para realizar os testes de adsorção.

3.2. Instrumentação

Para realizar a síntese e lavagem dos materiais sintetizados foi necessário utilizar banho ultrassônico da Unique Indústria e Comércio de Produtos Eletrônicos Ltda, bomba de vácuo e compressor modelo 131 tipo 2 VC da Prismatec Equipamentos, balança analítica modelo AG245 da Mettler Toledo, agitador magnético com aquecimento SL-91, estufa de secagem e esterilização SL-100, banho-maria SL-150/10, todos da Solab Científica Equipamentos para Laboratórios além de mantas

aquecedoras modelo 12E da Fisatom Equipamentos Científicos Ltda, e modelo LGI AHM-250 da Laborglas Indústria e Comércio de Vidrarias para Laboratório Ltda.

Já a magnetização dos materiais foi verificada através de ímãs genéricos de neodímio.

Para a homogeneização das soluções durante o teste de adsorção, foi utilizado homogeneizador de amostras modelo NH 2200 da Norte Científica Ltda.

Empregou-se também um pHmetro da marca Digital Gehaka® modelo PG 2000 para a obtenção das medidas de pH da solução eletrolítica.

Um microscópio óptico confocal configurado com um laser de 405 nm (Confocal Laser Scanning Microscope – FV3000) foi utilizado para avaliar a rugosidade e espessura da superfície dos polímeros impressos (mag-MIP e mag-NIP).

Para caracterizar a estrutura dos polímeros impressos foram realizadas análises na região do infravermelho com transformada de Fourier, empregando um espectrômetro FTIR Vertex 70 da Bruker com uma fonte de laser de HeNe e um detector DLaTGS, utilizando uma faixa de leitura de 4000 a 400 cm^{-1} .

Além disso, a morfologia e a caracterização da superfície dos materiais sintetizados foram verificadas por meio de um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução com fonte de elétrons por emissão de campo (FEG-SEM) Jeol JSM 6330F.

3.2.1. Análises cromatográficas

Utilizou-se um cromatógrafo Shimadzu modelo 20A, com detector UV/Visível SPD-20A, mostrador automático SIL-20A e degaseificador DGU-20A5, acoplado a um microcomputador. A fase estacionária foi uma coluna de fase reversa C18 da marca Shimadzu Shim – Pack CLC – ODS. Todas as amostras antes de serem analisadas foram submetidas à filtração com filtros de 0,45 μm conectados a uma seringa. As condições cromatográficas usadas para o analito de interesse foram baseadas nos estudos apresentados por Mello et al. (2009)³¹, onde o fluxo utilizado foi de 1 mL min^{-1} e o comprimento de onda de máxima absorção da 3,4-DCA foi de 247 nm. A fase móvel utilizada foi acetonitrila e água ultrapura na proporção 70:30 (v/v), respectivamente, com um tempo de análise de 5 minutos por amostra em uma temperatura de 30 °C. Essas condições instrumentais permaneceram inalteradas durante todos os estudos.

Imagem 1: HPLC utilizado para realizar as medidas cromatográficas.

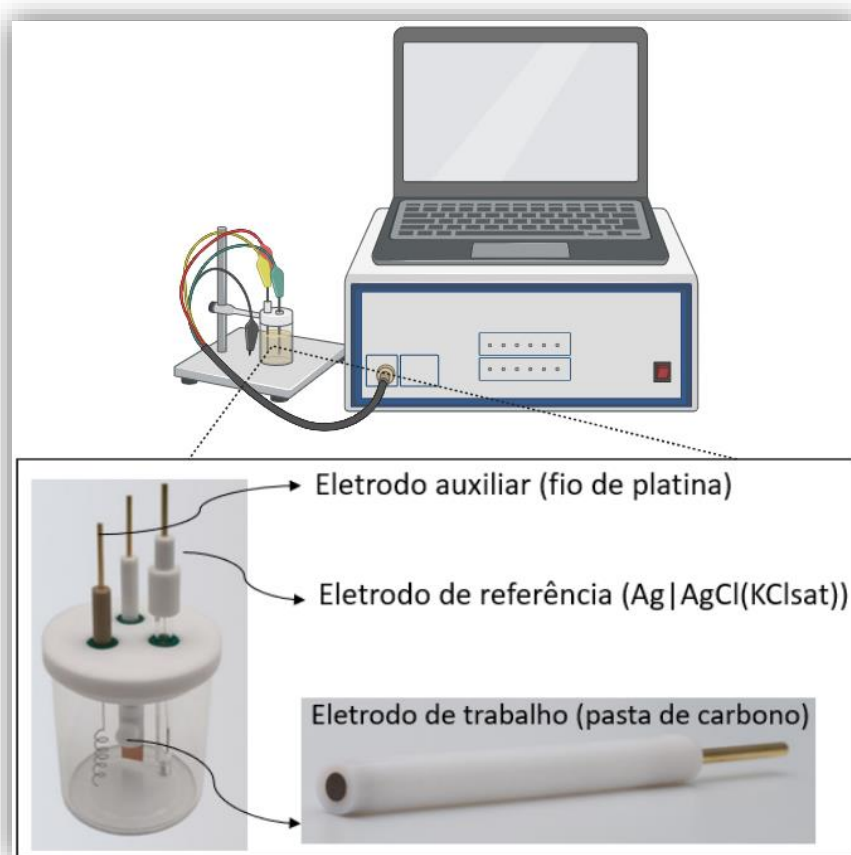


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

3.2.2. Análises eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato da μ -Autolab Tipo III, usando uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos, contendo um eletrodo de referência de Ag|AgCl (KCl sat) comercial da Analion®, um fio de platina em forma de espiral como eletrodo auxiliar e um eletrodo de trabalho que foi confeccionado na oficina do Instituto de Química da Unesp Araraquara, sendo composto, este, por uma haste condutora feita de cobre, tendo contato com um disco de platina revestido com Teflon, contendo uma cavidade no centro que é utilizada para realizar a imobilização da pasta de carbono.

Figura 5: Imagem representativa de um potenciostato contendo uma cela eletroquímica composta por três eletrodos.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

3.3. Simulação computação do método quântico por DFT (Teoria Funcional da Densidade)

Sabe-se que existe uma grande quantidade de compostos que podem ser utilizados como monômero funcional e solventes para a síntese do mag-MIP. Consequentemente, recorreu-se ao método de simulação computacional quântico denominado DFT (Teoria Funcional da Densidade), sendo este realizado por um aluno de pós-graduação pertencente ao grupo de pesquisa. Tal método descreve a distribuição de carga na molécula de interesse, 3,4-DCA, a fim de estabelecer uma relação entre solvente, monômero funcional e analito, descrevendo o comportamento das respectivas interações a partir da Energia Livre de Gibbs. Dessa maneira, elenca-se quais substâncias resultarão em melhor interação entre monômero funcional,

analito e solvente, com o propósito de formar o material polimérico de maior adsorção, uma vez que quanto mais negativa for a Energia de Gibbs, mais favorável será a interação.

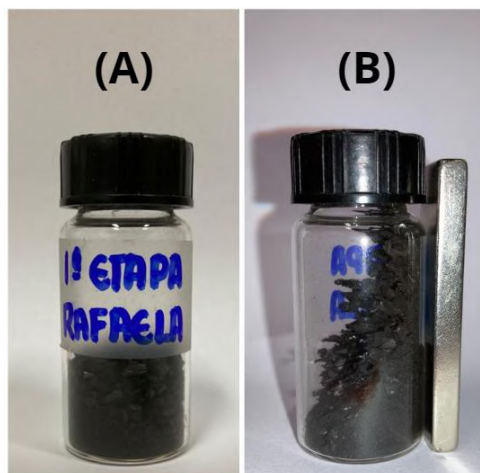
3.4. Síntese de nanopartículas magnéticas

Para a síntese do mag-MIP e do mag-NIP, foi necessário, primeiramente, sintetizar nanopartículas magnéticas, as quais tiveram sua síntese baseada no método Core@Shell, apresentado por HUSSAIN *et al.* (2016)³². Essa síntese é dividida em três etapas.

3.4.1. Etapa 1: Síntese das nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4)

A princípio, pesou-se 4,72 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 1,72 g de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, e os dissolveu em 80 mL de água ultrapura e 5 mL de HCl 37%. Em seguida, o sistema foi vedado com Parafilm® e submetido a condições de aquecimento constante de 80 °C, sob atmosfera de N_2 e agitação mecânica, por aproximadamente 10 minutos. Posteriormente, adicionou-se 10 mL de NH_4OH 28-30% (v/v) ao sistema, e, instantaneamente, observou-se que a coloração da solução ficou preta. O sistema foi mantido sob as mesmas condições por mais 30 minutos para que a reação fosse completa. Em seguida, realizou-se filtração a vácuo para separar o produto sólido da mistura de solventes do meio reacional. Após realizar algumas lavagens do produto com água destilada, o sólido obtido foi aquecido em uma estufa a 60 °C até observar completa secagem do material. O material formado nessa etapa está apresentado na Imagem 2.

Imagem 2: (A) Produto da etapa 1 da síntese das nanopartículas magnéticas, Fe_3O_4 ; (B) Fe_3O_4 sendo submetida a um campo magnético externo.

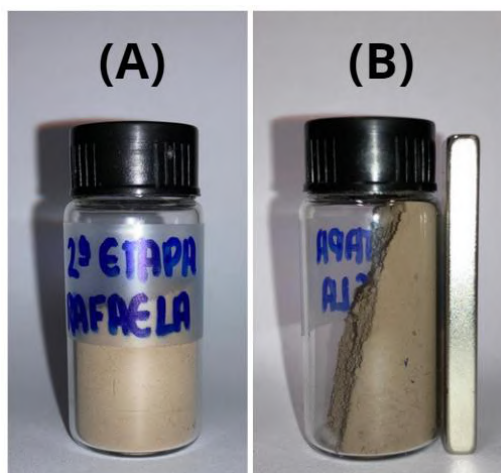


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

3.4.2. Etapa 2: Recobrimento das nanopartículas de magnetita com sílica ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$)

Pesou-se 300 mg da etapa 1 e as dissolveu em 40 mL de etanol e 4 mL de água ultrapura, sendo essa mistura submetida à banho ultrassônico por aproximadamente 15 minutos. Observou-se que o precipitado mudou de coloração, convertendo-se de preto para marrom. Em seguida, adicionou-se 5 mL de NH_4OH 28-30% (v/v) e 2 mL de TEOS ao sistema, que, em sequência, foi vedado com Parafilm® e mantido em temperatura ambiente sob atmosfera de N_2 e agitação mecânica por 12 horas. Posteriormente, realizou-se a obtenção do produto como já descrito na etapa 1. O material formado na etapa 2 está apresentado na Imagem 3.

Imagem 3: (A) Produto da etapa 2 da síntese das nanopartículas magnéticas, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$; (B) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ sendo submetida a um campo magnético externo.

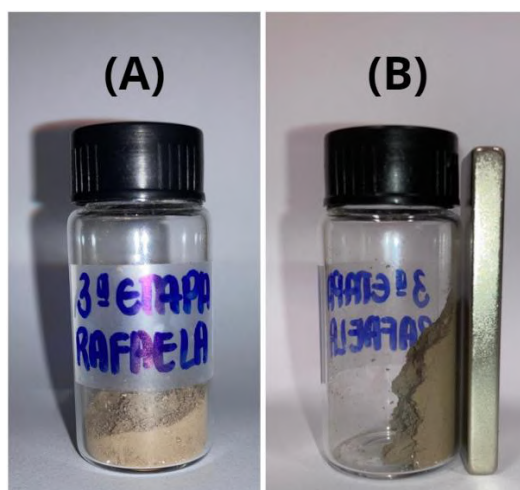


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

3.4.3. Etapa 3: Funcionalização das nanopartículas com MPS ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C}\equiv\text{C}$)

Pesou-se 250 mg da etapa 2 e as dissolveu em 50 mL de tolueno e 5 mL de MPS. Sequencialmente, o sistema foi vedado com papel alumínio e mantido em temperatura ambiente sob atmosfera de N_2 e agitação mecânica por 12 horas. Posteriormente, realizou-se a obtenção do produto como já descrito na etapa 1. O material formado na etapa 3 está apresentado na Imagem 4.

Imagem 4: (A) Produto da etapa 3 da síntese das nanopartículas magnéticas ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C}=\text{C}$); (B) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C}=\text{C}$ sendo submetida a um campo magnético externo.



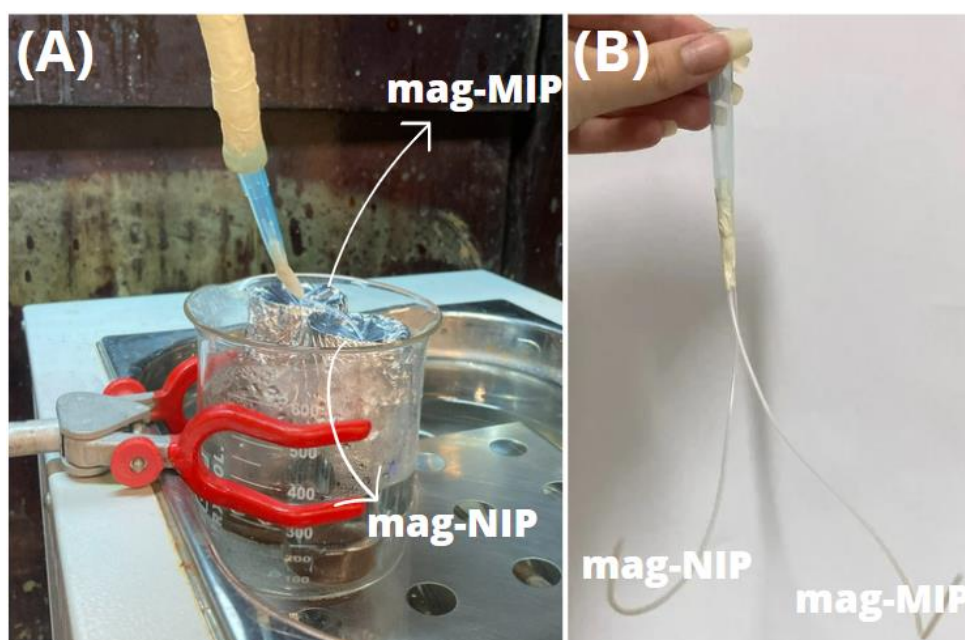
Fonte: elaborado pela Autora (2023).

3.5. Síntese dos polímeros mag-MIP e mag-NIP

Para sintetizar o mag-MIP, seguiu-se a proporção molar 1:4:20 proposta por Córdova (2019)³³, sendo analito (3,4-DCA), monômero funcional (testou-se duas substâncias: álcool alílico e ácido metacrílico) e monômero estrutural (EGDMA), respectivamente. Para isso, 0,02 mmol de 3,4-DCA e 0,8 mmol do monômero funcional foram solubilizados em 30 mL de etanol. Então, o sistema foi vedado com papel alumínio e mantido em temperatura ambiente sob atmosfera de N_2 por 30 minutos. Após esse período, adicionou-se 200 mg do produto da etapa 3 das nanopartículas magnéticas ao sistema, que posteriormente foi submetido ao banho ultrassônico por aproximadamente 3 minutos para realizar a homogeneização da solução. Em seguida, o sistema foi novamente vedado com papel alumínio e mantido em temperatura ambiente sob atmosfera de N_2 por mais 3 horas. Subsequente a esse íterim, adicionou-se, respectivamente, 4 mmol de EGDMA e 0,5 mol do iniciador radicalar AIBN na solução, e, em seguida, submeteu-se o sistema ao banho ultrassônico por aproximadamente 5 minutos, sendo esse posteriormente vedado com papel alumínio e mantido a uma temperatura de 60 °C no sistema de banho-maria sob atmosfera de N_2 por mais 2 horas e 30 minutos.

Para sintetizar o mag-NIP, seguiu-se o mesmo procedimento descrito acima, no entanto, não houve a adição do analito 3,4-DCA no sistema. Dessa maneira, o mag-NIP não apresentará cavidades seletiva em sua estrutura, agindo como um polímero de controle (branco) para verificar se houve, ou não, adsorção do analito no mag-MIP. Ademais, é importante ressaltar que apesar da ausência do analito, o mag-NIP foi submetido às mesmas condições de síntese que o mag-MIP (Imagem 5).

Imagem 5: (A) Etapa final da síntese de mag-NIP e mag-MIP; (B) Adaptação de ponteira para saída de fluxo de N_2 .

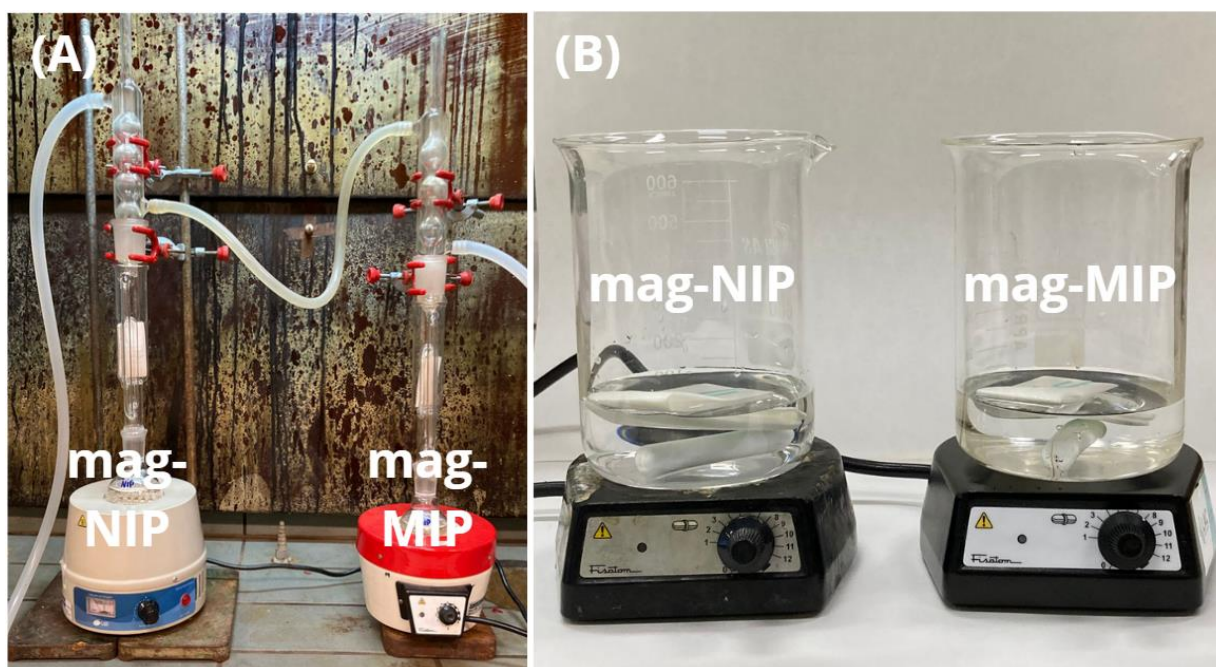


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Após o término da reação, os produtos obtidos foram secos em uma estufa a 60 °C. Depois de secos, cada polímero foi transferido para um papel de filtro onde foi empacotado em formato de envelope, para que ambos fossem lavados. A lavagem foi realizada para que todo o analito utilizado como molde no mag-MIP fosse eliminado de sua estrutura, formando assim as cavidades seletivas do material. Nota-se que apesar do mag-NIP não conter o analito em questão, foi necessário que este material fosse submetido às mesmas condições que o mag-MIP, portanto, ambos os materiais foram lavados nas mesmas condições.

A lavagem dos polímeros foi realizada de duas maneiras para posterior comparação de eficiência, sendo elas a quente e em temperatura ambiente. A lavagem a quente (100 °C) consistiu na utilização do sistema soxhlet para que o procedimento fosse realizado. Para isso, o sistema utilizou mantas de aquecimento em seu nível máximo de funcionamento e a temperatura do banho-maria marcou uma temperatura de aproximadamente 15 °C para que o sistema fosse resfriado e ocasionasse o refluxo, realizando, conseqüentemente, a lavagem do material, visto que estes ficaram envoltos por um papel de filtro em formato de envelope, como descrito anteriormente, na parte do reservatório de vidro (dedal) do sistema. Já no caso da lavagem em temperatura ambiente, os polímeros foram envoltos por um papel de filtro e presos por um clipe. Depois de empacotados, os polímeros foram colocados em béqueres separados contendo uma mistura de solventes e permaneceram sob agitação constante por meio de um agitador magnético para que a lavagem fosse realizada. Em ambas as lavagens estudadas se utilizou a mesma mistura de solventes, sendo etanol e ácido acético na proporção 9:1 (v/v), respectivamente, os quais foram trocados a cada 24 horas até totalizar um período de 5 dias. A Imagem 6 evidencia os dois tipos de lavagens realizadas.

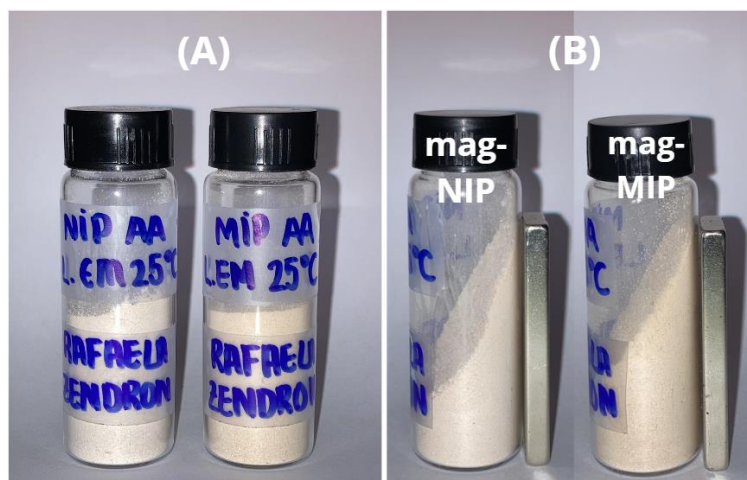
Imagem 6: (A) Sistema soxhlet para a lavagem a quente dos polímeros; (B) Sistema de lavagem do mag-MIP e mag-NIP em temperatura ambiente.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Depois de lavado, o material foi seco em estufa a 60 °C, sendo posteriormente macerado e guardado em um frasco de vidro. O material formado está apresentado na Imagem 7.

Imagem 7: (A) Produto da síntese do mag-MIP e mag-NIP; (B) mag-MIP e mag-NIP submetidos a um campo magnético externo.



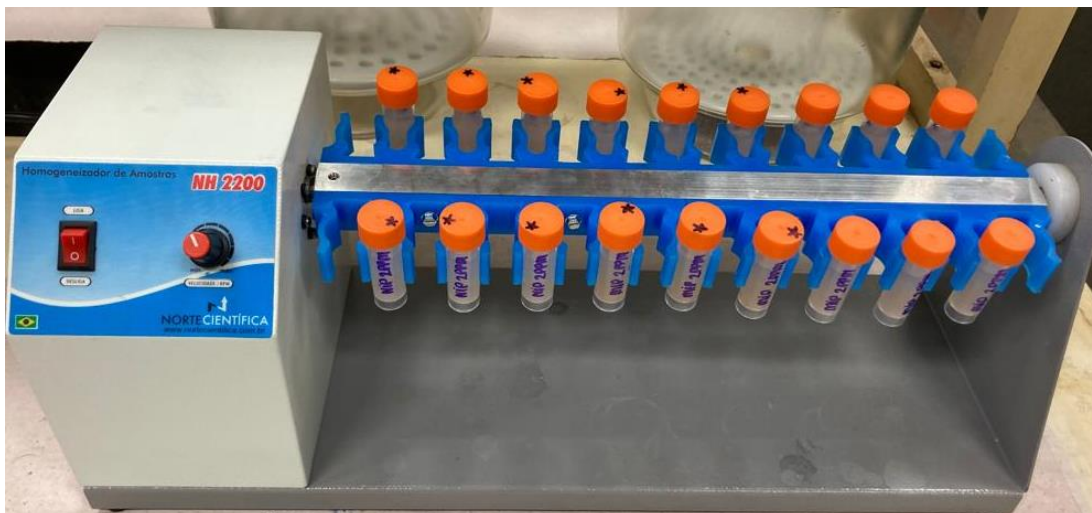
Fonte: elaborado pela Autora (2023).

3.6. Testes de adsorção

A princípio, pesou-se quantidades de mag-MIP e mag-NIP e os transferiu para frascos com tampa. Então, adicionou-se um volume de 5,0 mL de solução de 3,4-DCA em concentrações variadas a estes frascos, sendo essas soluções preparadas em diversas proporções de acetonitrila e água ultrapura. De modo a garantir o contato do mag-MIP e mag-NIP com o analito, os frascos foram submetidos a uma agitação constante através de um homogeneizador por um período de tempo otimizado, como é possível observar na Imagem 8. Ao término deste período, alíquotas do sobrenadante foram coletadas e analisadas no HPLC-UV. Sendo assim, a quantidade de substrato que permaneceu livre em solução foi determinada em análise cromatográfica e a concentração adsorvida pelo mag-MIP (concentração de substrato adsorvido/g de polímero) foi determinada mediante a subtração da quantidade inicial de substrato na solução (Equação 1).

$$C_{ppm \text{ adsorvido}} = C_{ppm \text{ total}} - C_{ppm \text{ HPLC}} \quad (\text{Equação 1})$$

Imagem 8: Homogeneizador utilizado nos ensaios de adsorção.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Dessa maneira, a fim de verificar a adsorção do analito, os resultados obtidos para mag-MIP e mag-NIP foram comparados com os valores padrões que compõem a curva analítica da 3,4-DCA. Para isso, foi utilizada uma solução estoque para obter as diferentes concentrações almejadas. Ademais, as quantidades otimizadas de massa de polímero, tempo de homogeneização, proporção de solvente e concentração do analito, foram encontradas na seção seguinte, a fim de obter a melhor diferença de adsorção entre mag-MIP e mag-NIP.

3.7. Síntese da pasta de carbono modificada

O eletrodo de trabalho utilizado no sistema eletroquímico apresenta uma cavidade com diâmetro de 3 mm, sendo essa utilizada para a realizar a imobilização da pasta de carbono. Para formação da pasta de carbono modificada, uma quantidade específica de mag-MIP foi misturada com pó de grafite e homogeneizada por 10 minutos usando um almofariz e um pistilo. Após essa etapa, adicionou-se óleo mineral (nujol) para obtenção da pasta de carbono modificada. O estudo da proporção mais adequada de pó de grafite e de mag-MIP pode ser encontrado na seção seguinte.

Figura 6: Esquema da síntese da pasta de carbono modificada.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

3.8. Preparação das amostras ambientais

Visando a aplicabilidade do sensor proposto em amostras ambientais, testou-se três tipos diferentes de matrizes:

- I. Amostra de água do Rio Mogi-Guaçu (cerca de 100 km do município de Araraquara, Estado de São Paulo, Brasil). A amostra foi coletada em diferentes pontos e profundidades do rio, sendo estocadas em frascos âmbar.
- II. Amostra de água de torneira que foram coletas através do laboratório de química analítica do Instituto de Química da Unesp Araraquara.
- III. Amostra de solo que foi obtida de uma fazenda de cana-de-açúcar localizada entre os municípios de Araraquara e São Carlos. Essa amostra foi preparada pesando-se cerca de 1 g da matriz que foi homogeneizada em um béquer contendo 10 mL de acetonitrila³⁴.

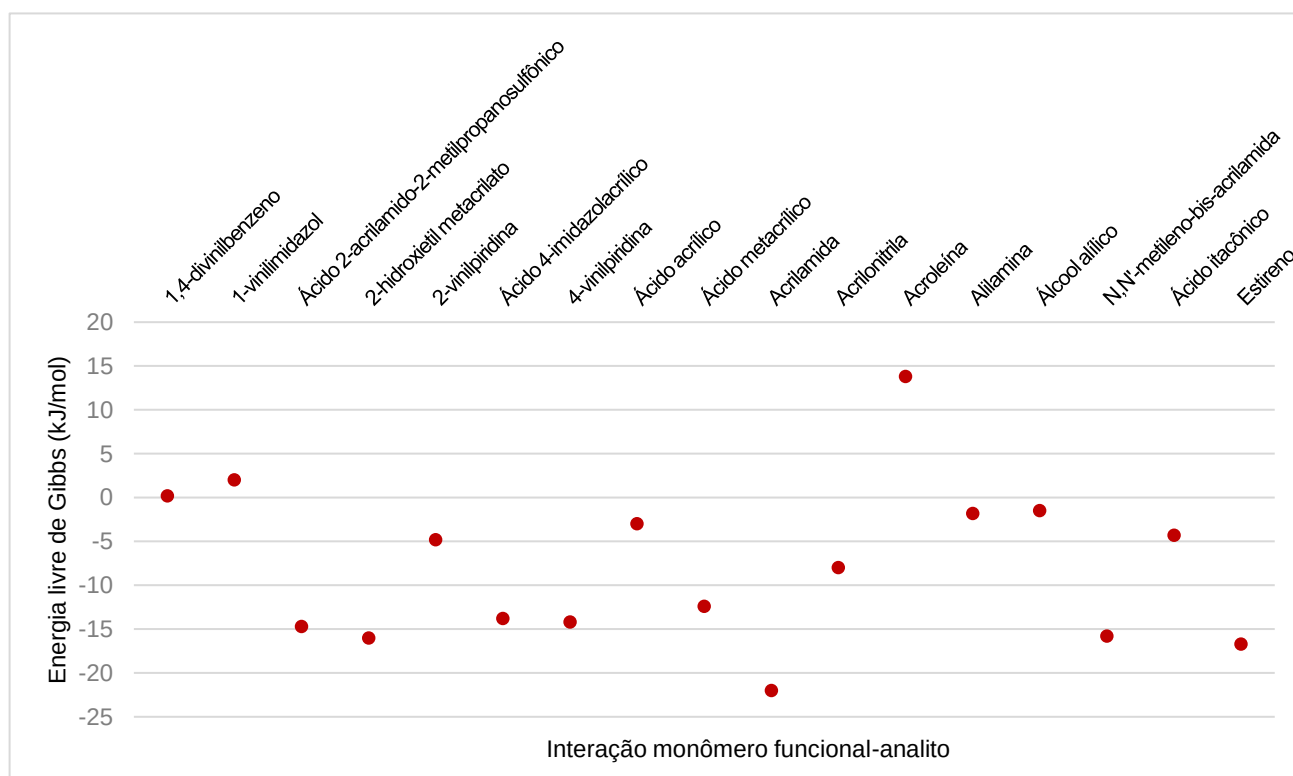
Todas as amostras foram testadas no sensor eletroquímico, e uma pequena alíquota destas foram colocadas em diferentes balões volumétricos enriquecidos com dois níveis diferentes de concentração de 3,4-DCA.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Simulação computacional

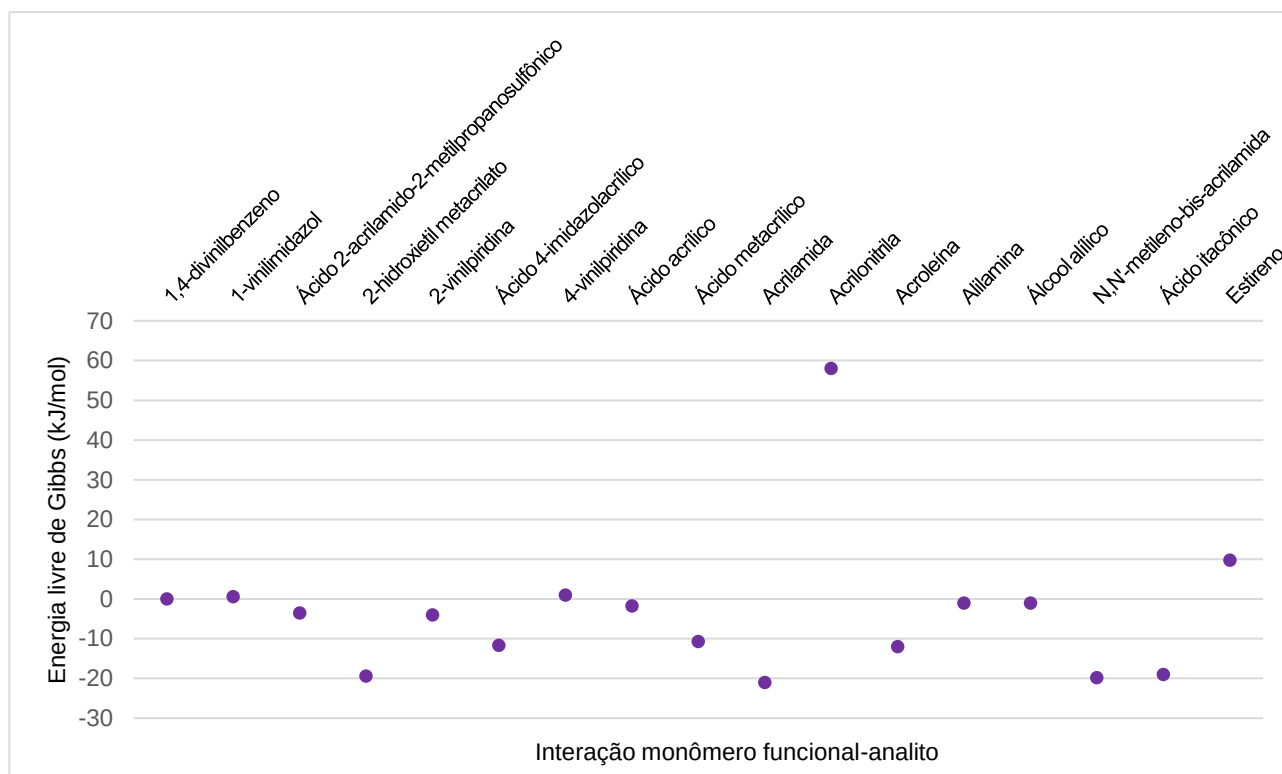
Inicialmente, foi realizado a simulação computacional utilizando o método quântico (DFT) o qual permitiu analisar as interações do analito com os diferentes tipos de solventes e os possíveis monômeros funcionais que foram utilizados na síntese dos polímeros. As Figuras 7 e 8 mostram os resultados obtidos na simulação computacional entre o analito e os monômeros funcionais utilizando meio reacional acetonitrila (Figura 7) e metanol (Figura 8).

Figura 7: Simulação computacional do analito com diferentes monômeros funcionais utilizando acetonitrila como meio de interação.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Figura 8: Simulação computacional do analito com diferentes monômeros funcionais utilizando metanol como meio de interação.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

O critério da escolha de solvente para a síntese do mag-MIP e do mag-NIP foi realizado pelo valor da interação dada pela energia livre de Gibbs, que foi mais favorável para o solvente metanol, e, também pelo fato deste ser um solvente porogênico muito utilizado nas sínteses de MIP. Diante disso, escolheu-se o metanol como solvente orgânico para realizar as sínteses dos polímeros.

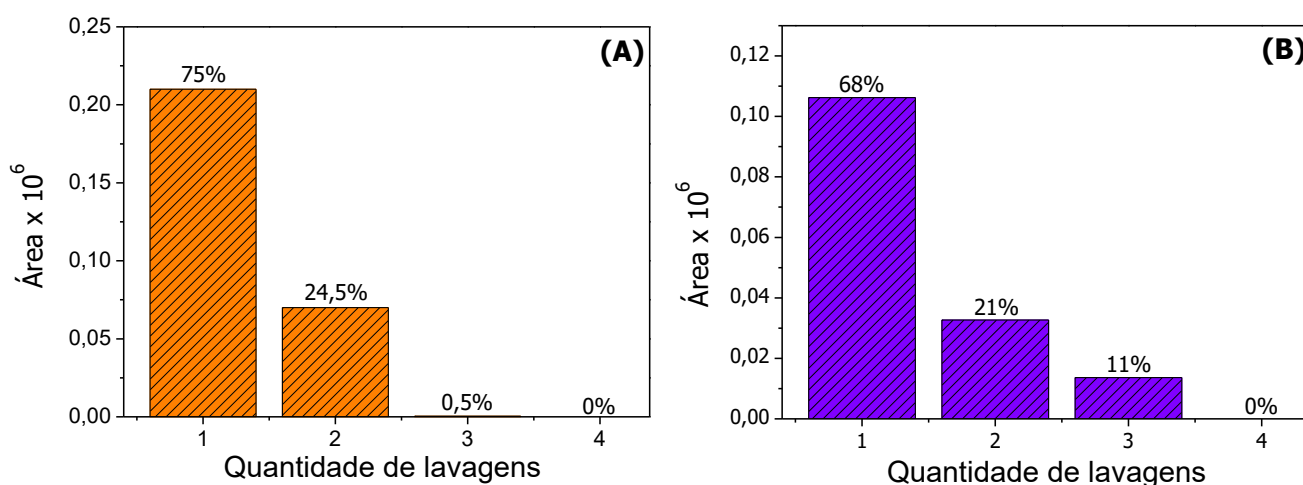
Em seguida, para determinar o melhor monômero funcional para constituir os polímeros, observou-se na Figura 7 qual dos monômeros apresentou a melhor interação com a 3,4-DCA, isto é, qual obteve a energia livre de Gibbs mais negativa (estado mais favorável). A partir dessa observação, escolheu-se a acrilamida como monômero funcional de melhor interação. No entanto, anteriormente, a aluna de iniciação científica, Larissa Próspero dos Santos, realizou a síntese do material com esse monômero e não obteve resultados satisfatórios, visto que não se observou diferenças de adsorção significativas entre mag-MIP e mag-NIP. Isso pode ser explicado pela forte interação entre o analito e a acrilamida, ocasionando em uma dificuldade de eliminá-lo da molécula molde, impossibilitando a formação das

cavidades seletivas do polímero. Dessa maneira, escolheu-se testar outros dois monômeros funcionais que possuem interações mais fracas com o analito, como o ácido metacrílico e o álcool alílico.

4.2. Lavagem dos polímeros

Depois de realizar a síntese do material, foi necessário lavar os polímeros para que o analito de interesse fosse totalmente removido da molécula molde e assim as cavidades seletivas fossem formadas no mag-MIP. Em seguida, realizou-se o comparativo entre dois tipos de lavagem diferentes, a lavagem a quente e a lavagem em temperatura ambiente. Ao final de cada lavagem, recolheu-se uma alíquota do solvente e analisou-se no HPLC-UV, sendo esse procedimento realizado até observar que o solvente de lavagem não continha mais traços de 3,4-DCA, constatando que todo o analito adicionado na síntese do polímero havia sido totalmente removido do material. A Figura 9 apresenta a diferença entre as duas lavagens em função dos dias. Deve-se enfatizar que na lavagem a quente, a amostra era recolhida a cada 24 horas e na lavagem em temperatura ambiente a amostra era recolhida a cada 4 horas.

Figura 9: Quantidade de analito presente em cada lavagem do material sintetizado. (A) Lavagem a quente; (B) Lavagem em temperatura ambiente.



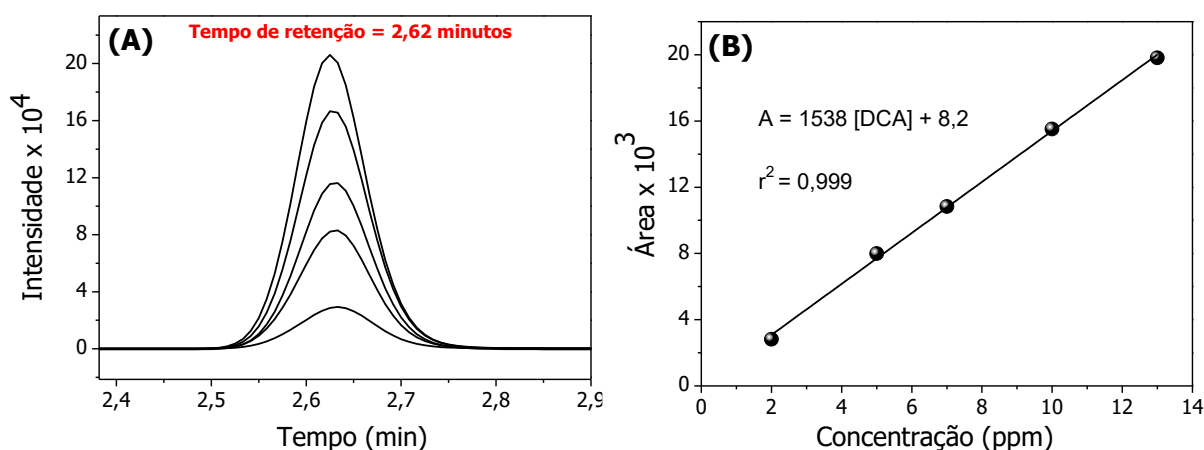
Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Ao realizar o comparativo, nota-se que ambas as lavagens foram eficientes, e, apesar dos materiais terem sido lavados em temperaturas distintas, na quarta lavagem, em ambos os casos, o analito já estava totalmente removido do mag-MIP.

4.3. Curva de calibração

A fim de obter a resposta instrumental do analito de interesse e prever a concentração do mesmo nas amostras analisadas, construiu-se uma curva de calibração da 3,4-DCA. A Figura 10 apresenta o cromatograma (A) e sua curva analítica (B) obtida para cinco concentrações diferentes de solução contendo o analito. O comprimento de onda de 254 nm, a fase móvel acetonitrila/água 70:30 (v/v) e fluxo de 1 mL min⁻¹ foram as condições utilizadas nas medidas cromatográficas.

Figura 10: Curva de calibração da 3,4-DCA. (A) Cromatograma; (B) Curva analítica.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

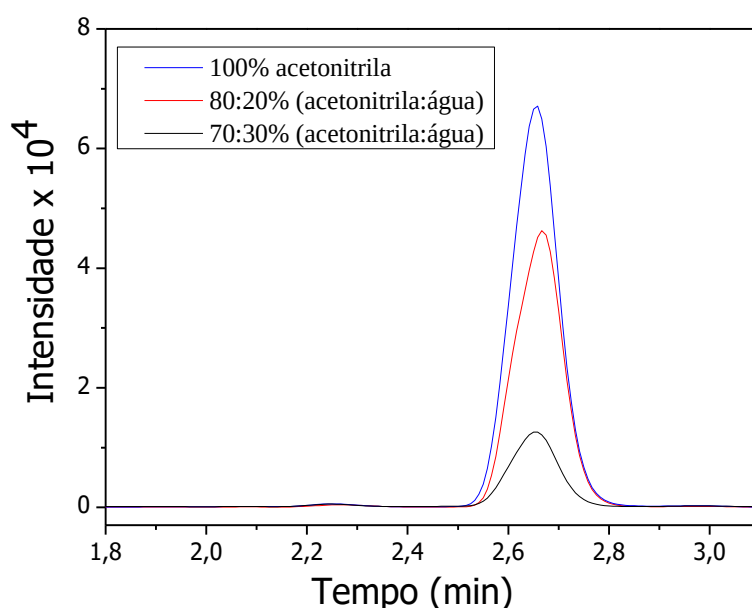
A partir do gráfico obtido, conclui-se que, como o valor do coeficiente de correção (r^2) apresentou um valor muito próximo a 1, considera-se que a curva analítica obtida possui boa linearidade e precisão, sendo um parâmetro confiável para o monitoramento do analito analisado.

4.4. Material sintetizado com o monômero funcional ácido metacrílico

4.4.1. Teste de proporção de solvente

Com o objetivo de determinar a proporção de solventes mais adequadas para o mag-MIP sintetizado com o monômero funcional ácido metacrílico, realizou-se um estudo de interações de diferentes solventes com o polímero obtido. Os solventes analisados foram: (I) 100% acetonitrila; (II) 70:30 (v/v) de acetonitrila/água e (III) 80:20 (v/v) de acetonitrila/água. Os experimentos foram realizados em triplicata e o resultado das médias desses valores está expresso na Figura 11.

Figura 11: Cromatogramas do ensaio de adsorção dos testes de proporção de solvente em uma concentração de 2 ppm de 3,4-DCA.



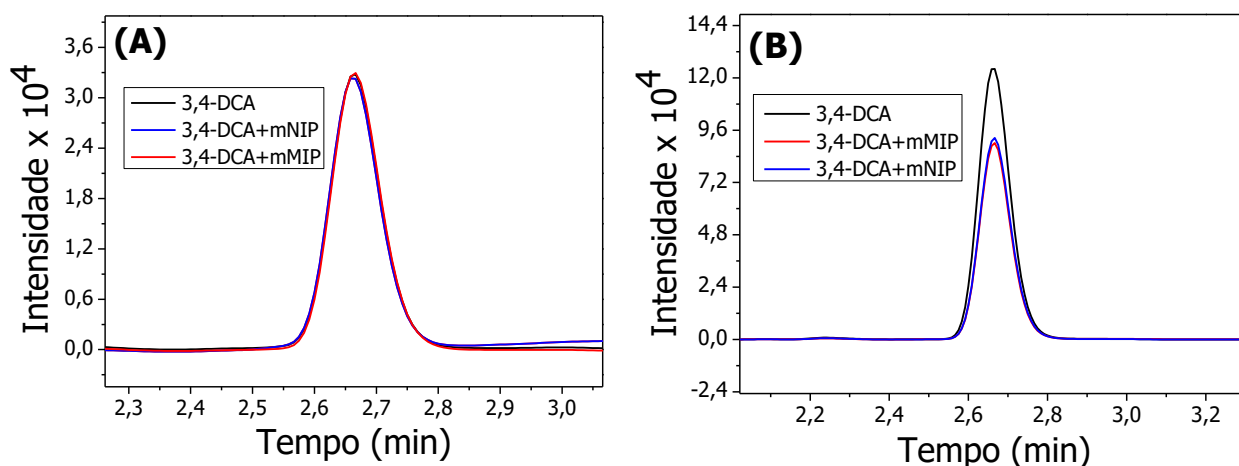
Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Sabendo que quanto maior o sinal obtido, isto é, quanto maior a intensidade do pico, melhor o resultado, concluiu-se que ao usar 100% de acetonitrila como solvente, os testes de adsorção apresentarão os melhores resultados. No entanto, sabendo que o objetivo do polímero é a aplicação em amostras ambientais, é necessário que uma quantidade de água esteja presente conjuntamente com o solvente orgânico durante os testes de adsorção. Dessa forma, a melhor proporção estudada foi 70:30 (v/v) de acetonitrila/água, sendo essa utilizada nos posteriores testes de adsorção.

4.4.2. Teste de adsorção

A fim de verificar se o material sintetizado apresentava cavidades que possibilitaria a adsorção sensível da 3,4-DCA, realizou-se testes de adsorção do mag-MIP utilizando o monômero funcional ácido metacrílico em duas concentrações de 3,4-DCA, 2 e 10 ppm (Figura 12).

Figura 12: Cromatograma dos ensaios de adsorção (A) 2 ppm de 3,4-DCA; (B) 10 ppm de 3,4-DCA.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Através da comparação dos cromatogramas em diferentes concentrações que o material foi submetido, evidencia-se que, para o caso (A), tanto mag-MIP quanto mag-NIP apresentaram a mesma intensidade de sinal, não sendo observado, inclusive, qualquer indicação de adsorção do analito nesses materiais, nem mesmo quando comparado ao cromatograma do padrão na mesma concentração. Já para o caso (B), nota-se o mesmo comportamento anterior, tanto mag-MIP quanto mag-NIP apresentaram o mesmo sinal analítico, porém, observou-se uma pequena diferença de intensidade do sinal em relação ao padrão. Dessa maneira, conclui-se que o polímero sintetizado com o monômero funcional ácido metacrílico não apresentou resultados satisfatórios, sugerindo que não houve a formação de cavidades seletivas no mag-MIP, uma vez que tanto mag-MIP quanto mag-NIP apresentaram resultados praticamente iguais durante as análises (experimentos feitos em triplicata). Sendo

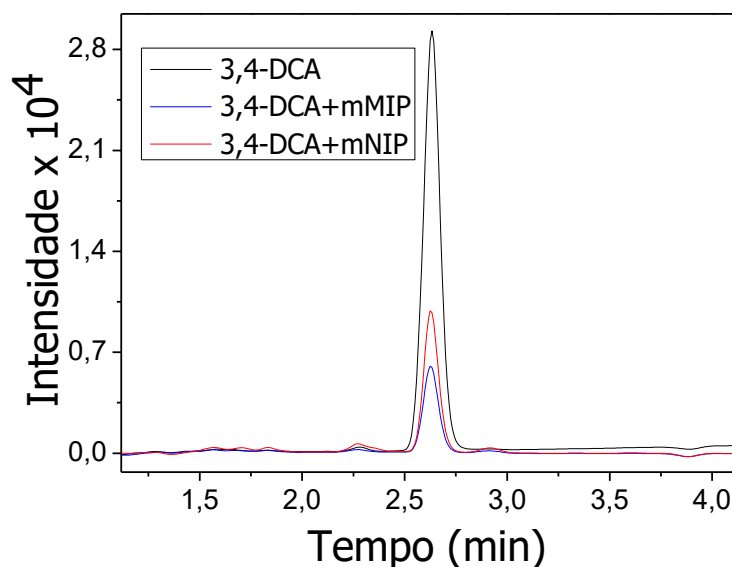
assim, optou-se por sintetizar outro polímero, esse contendo o monômero funcional álcool alílico em sua estrutura.

4.5. Material sintetizado com o monômero funcional álcool alílico

4.5.1. Teste de adsorção preliminar

Em princípio, para identificar se o mag-MIP constituído pelo monômero funcional álcool alílico apresentava cavidades que possibilitavam a adsorção do analito de interesse, realizou testes de adsorção preliminares. A Figura 13 ilustra o cromatograma da 3,4-DCA e da 3,4-DCA em presença de uma quantidade de polímero (4,0 mg). A concentração padrão utilizada para os ensaios de adsorção de mag-MIP e mag-NIP foi de 2 ppm de 3,4-DCA.

Figura 13: Estudo de adsorção de mag-MIP e mag-NIP utilizando o método cromatográfico.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

A partir dos cromatogramas obtidos, constatou-se que o material sintetizado apresentou resultados promissores, uma vez que foi observado que o mag-MIP adsorveu o analito mais do que o mag-NIP, indicando que possivelmente houve a

formação das cavidades seletivas no material de interesse. Além disso, o sinal referente aos polímeros está abaixo do sinal do padrão, sinalizando assim uma adsorção eficiente.

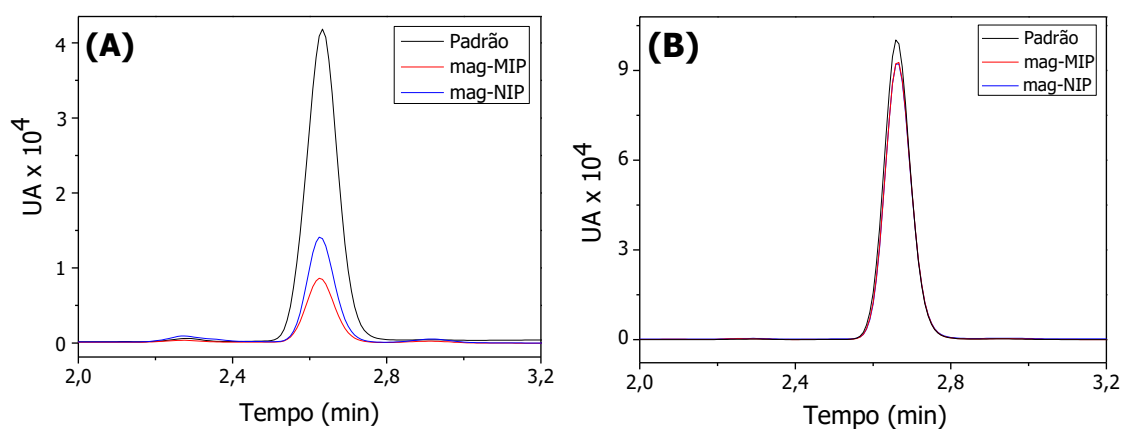
Dessa forma, apesar do polímero sintetizado com álcool alílico apresentar diferença na adsorção entre mag-MIP e mag-NIP, estudou-se diferentes parâmetros para que essa adsorção fosse a maior possível, a fim de otimizar os resultados e fazer com que o polímero fosse o mais sensível e seletivo possível ao analito de interesse.

4.5.2. Otimização dos parâmetros de adsorção

4.5.2.1. Estudo de concentração

Com a finalidade de avaliar a adsorção da 3,4-DCA pelo mag-MIP e mag-NIP, realizou-se um teste de adsorção em dois níveis de concentração diferentes: 2 e 5 ppm de 3,4-DCA (Figura 14). Os testes de adsorção basearam-se na utilização de uma massa de 10 mg de polímero em uma proporção de solvente 50:50 acetonitrila/água (v/v) em um período de 1h de adsorção. Esses parâmetros foram otimizados posteriormente.

Figura 14: Ensaios de adsorção de mag-MIP e mag-NIP para duas concentrações de 3,4-DCA (A) 2ppm e (B) 5ppm.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

A partir dos cromatogramas obtidos, observou-se que quando a concentração do analito aumentou, a adsorção diminuiu, evidenciando que a concentração de 2 ppm de 3,4-DCA foi a concentração ótima encontrada para a adsorção do mag-MIP, uma vez que este adsorveu consideravelmente mais do que o mag-NIP, diferentemente de 5 ppm ou concentrações mais altas de 3,4-DCA, onde tanto mag-MIP quanto mag-NIP apresentaram a mesma intensidade de sinal, não sendo observado, portanto, nenhuma diferença na adsorção do mag-MIP em relação ao mag-NIP. Isso pode ter ocorrido, provavelmente, em razão da saturação das cavidades seletivas do material.

4.5.2.2. Estudo de tempo de adsorção

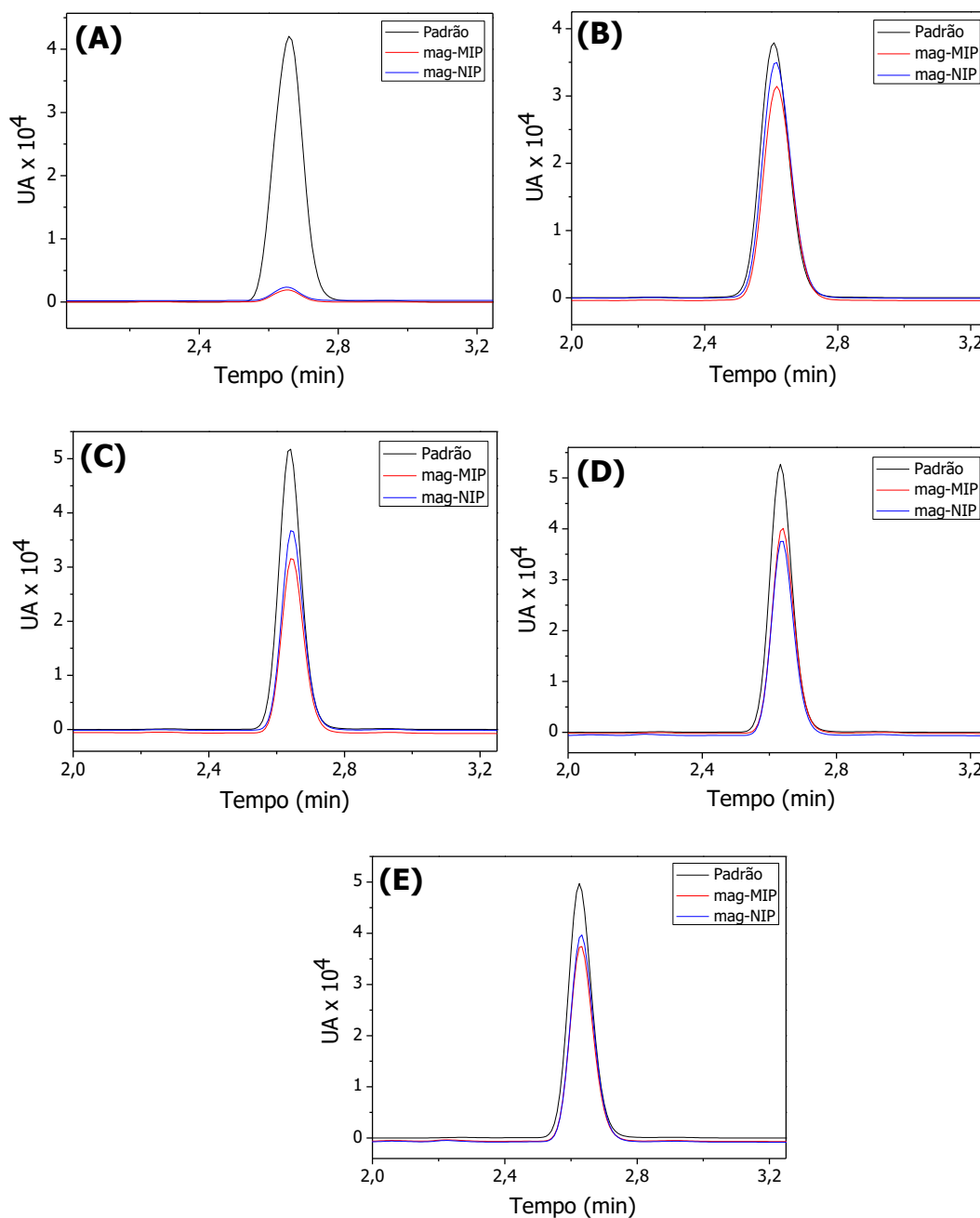
Realizou-se o estudo de melhor tempo de adsorção utilizando a concentração de 2 ppm do analito. No teste, comparou-se 10 períodos de adsorção: tempo 0, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 e 240 minutos. O teste de adsorção seguiu com a utilização de 10 mg de polímero em uma proporção de solvente 50:50 acetonitrila/água (v/v), no entanto, esses padrões foram otimizados posteriormente.

Os resultados obtidos mostraram que o melhor tempo de adsorção foi 90 minutos, com mag-MIP adsorvendo mais que o mag-NIP. Antes desse período, a adsorção entre os polímeros foi baixa, e em tempos maiores a adsorção permanecia praticamente constante, concluindo que o tempo ótimo de adsorção foi de 90 minutos.

4.5.2.3. Estudo da proporção de solvente

Com o objetivo de obter a melhor proporção de solventes para adsorção do mag-MIP sintetizado com o monômero funcional álcool alílico, realizou-se um estudo de interações entre a 3,4-DCA com o polímero obtido utilizando diferentes solventes. Os solventes analisados foram água e acetonitrila nas seguintes proporções: 100% água, 100% acetonitrila, 70:30 (v/v) de acetonitrila/água, 50:50 (v/v) de acetonitrila/água e 30:70 (v/v) de acetonitrila/água, sendo os dados obtidos expressos na Figura 15. Nos testes de adsorção foram utilizadas uma massa de 10 mg de polímero e uma concentração de 2 ppm de 3,4-DCA em período de 90 minutos de adsorção, no entanto, os parâmetros de massa foram otimizados posteriormente.

Figura 15: Ensaios de adsorção de mag-MIP e mag-NIP para as diferentes proporções de solventes (A) 100% água; (B) 100% acetonitrila; (C) 70:30 acetonitrila/água (v/v); (D) 50:50 acetonitrila/água (v/v) e (E) 30:70 acetonitrila/água (v/v).



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

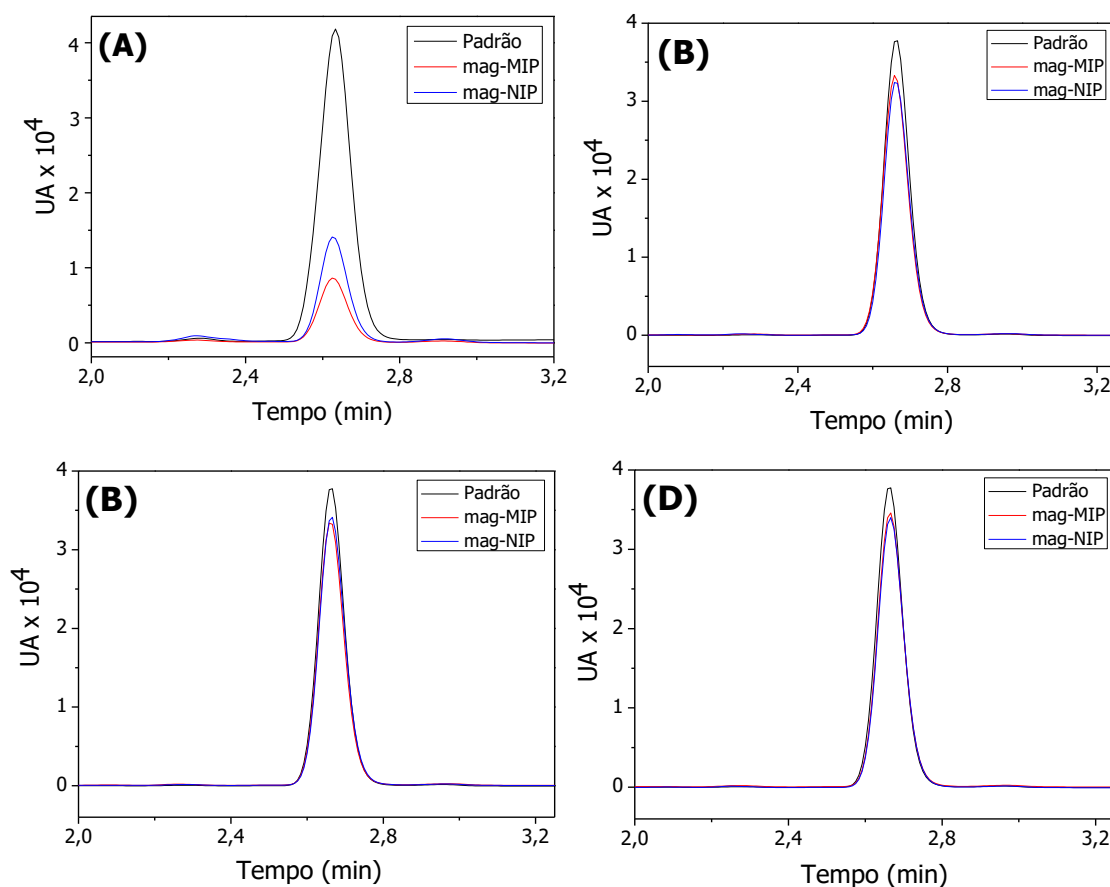
A partir dos resultados, conclui-se que os cromatogramas obtidos para a proporção de solvente 100% acetonitrila (B) e 70:30 (v/v) de acetonitrila/água (C) foram os que apresentaram melhores respostas, uma vez que o mag-MIP adsorveu consideravelmente mais que o mag-NIP, em ambos os casos. Nos demais

cromatogramas, observa-se praticamente uma mesma intensidade de sinal entre os polímeros, sendo observado nenhuma ou pouca indicação de adsorção dos materiais. Dessa maneira, escolheu-se a proporção de solvente (C) 70:30 (v/v) de acetonitrila/água para dar prosseguimento nas análises cromatográficas, visto que como o polímero sintetizado possui aplicação em amostras ambientais, é imprescindível que a água esteja nos ensaios de adsorção.

4.5.2.4. Estudo de massa

Neste estudo, diversas quantidades de massa dos polímeros foram testadas com a finalidade de obter a maior adsorção possível do analito. As massas analisadas foram: 4, 8, 10 e 12 mg, sendo os dados obtidos expressos na Figura 16. O teste de adsorção seguiu o padrão de uma concentração de 2 ppm de 3,4-DCA, numa proporção de solvente 70:30 acetonitrila/água e um período de 90 minutos de adsorção.

Figura 16: Ensaios de adsorção de mag-MIP e mag-NIP para proporções variadas de massa de polímero (A) 4 mg; (B) 8 mg; (C) 10 mg e (D) 12mg.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

A partir dos cromatogramas obtidos, observou-se um resultado satisfatório quando a massa do polímero foi de 4,0 mg. Para as demais massas, notou-se praticamente o mesmo resultado, onde mag-MIP e mag-NIP apresentaram a mesma adsorção, não sendo seletivo para a 3,4-DCA.

Sendo assim, ao realizar um estudo completo e detalhado das condições ideais de adsorção do polímero impresso, concluiu-se que a concentração de 2 ppm de 3,4-DCA, o tempo de 90 minutos de adsorção, a massa de 4 mg de material em uma proporção de solvente 70:30 (v/v) de acetonitrila/água foram as melhores condições obtidas, fazendo com que o mag-MIP adsorvesse consideravelmente mais do que o mag-NIP. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e apresentam um desvio padrão relativo menor que 4%.

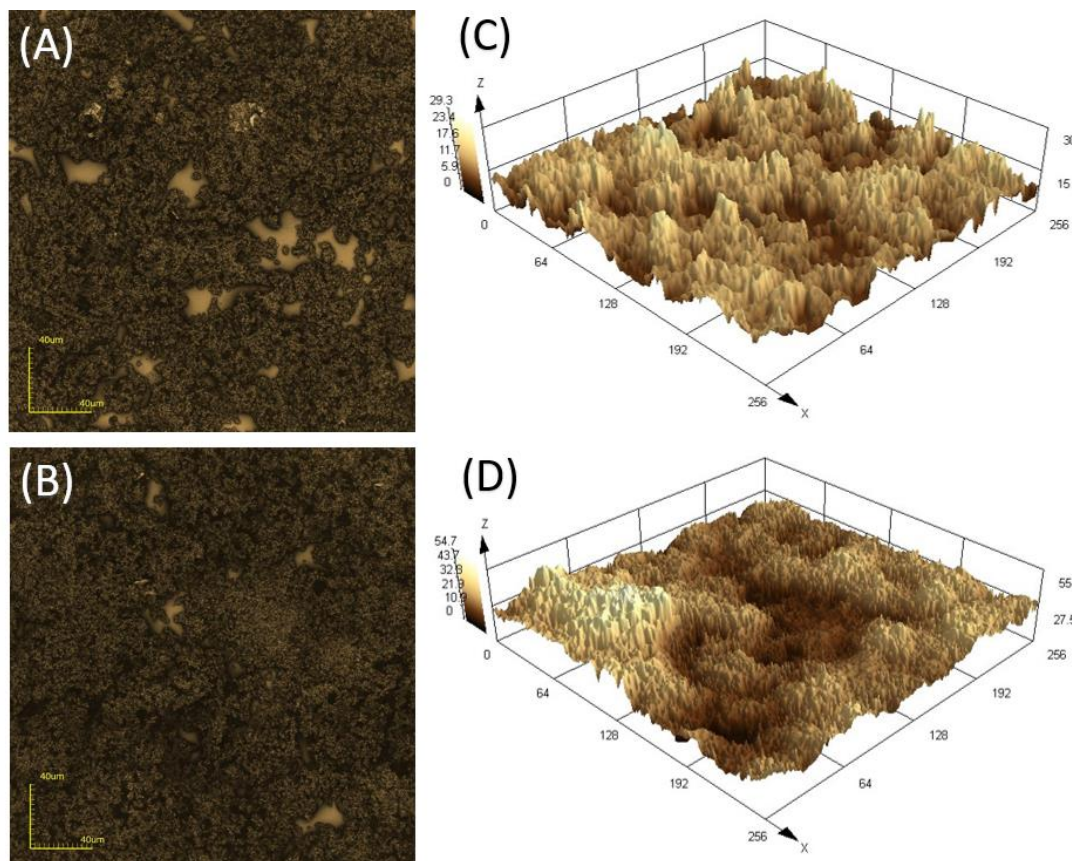
4.6. Caracterização morfológica dos materiais

Após realizar o estudo de otimização do polímero nas análises de HPLC-UV, foi feito um estudo para verificar as características químicas e morfológicas dos materiais sintetizados.

4.6.1. Análise por microscopia confocal

Com a finalidade de obter a topografia dos polímeros mag-MIP e mag-NIP sintetizados, realizou-se a análise de microscopia confocal dos materiais, assim sendo possível obter imagens com alta resolução espacial da superfície dos polímeros. Através desses gráficos, foi possível obter a informação da rugosidade de cada polímero. A Imagem 9 mostra as imagens de microscopia confocal de mag-MIP e mag-NIP em formato 2D e 3D.

Imagem 9: Imagem topográfica de mag-MIP (A) e (C); e mag-NIP (B) e (D).



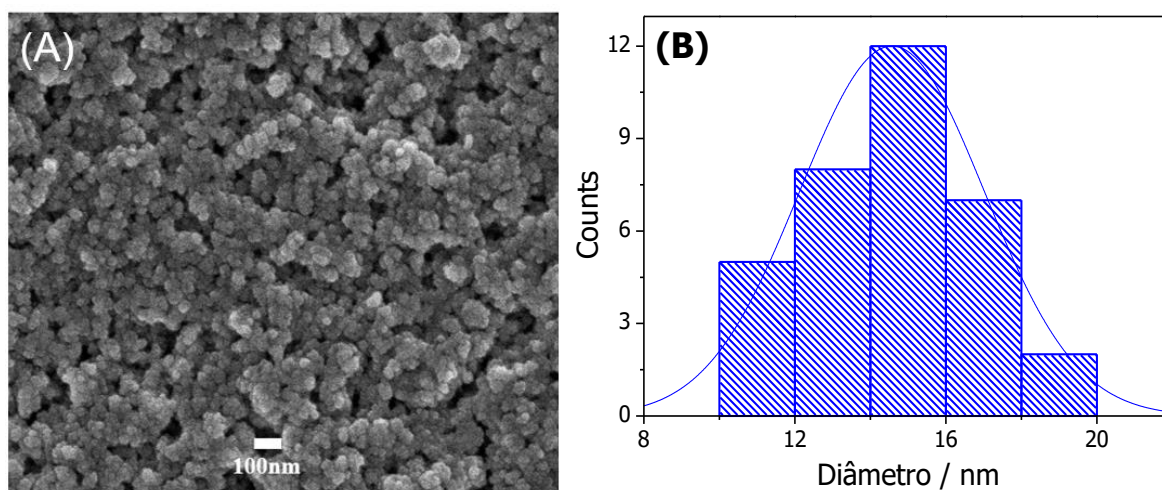
Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Analisando a rugosidade superficial dos polímeros mag-MIP e mag-NIP, observou-se que houve aumento da rugosidade do mag-MIP em relação ao mag-NIP, indicando, portanto, que durante o processo de síntese pode ter ocorrido a formação das cavidades seletivas complementares ao analito de interesse. Os valores de rugosidade média obtidos foram $1,2 \pm 0,1 \mu\text{m}$ para o mag-MIP e $0,6 \pm 0,1 \mu\text{m}$ para o mag-NIP. Esses valores foram obtidos através da análise de diferentes áreas das amostras analisadas.

4.6.2. Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Outra maneira de obter uma imagem topográfica dos materiais sintetizados com alta definição é através da microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MEV-FEG). A Imagem 10 apresenta os resultados obtidos para as nanopartículas de ferro sintetizadas em laboratório.

Imagem 10: Imagens MEV das nanopartículas magnéticas de ferro sintetizadas (A) e histograma (B).

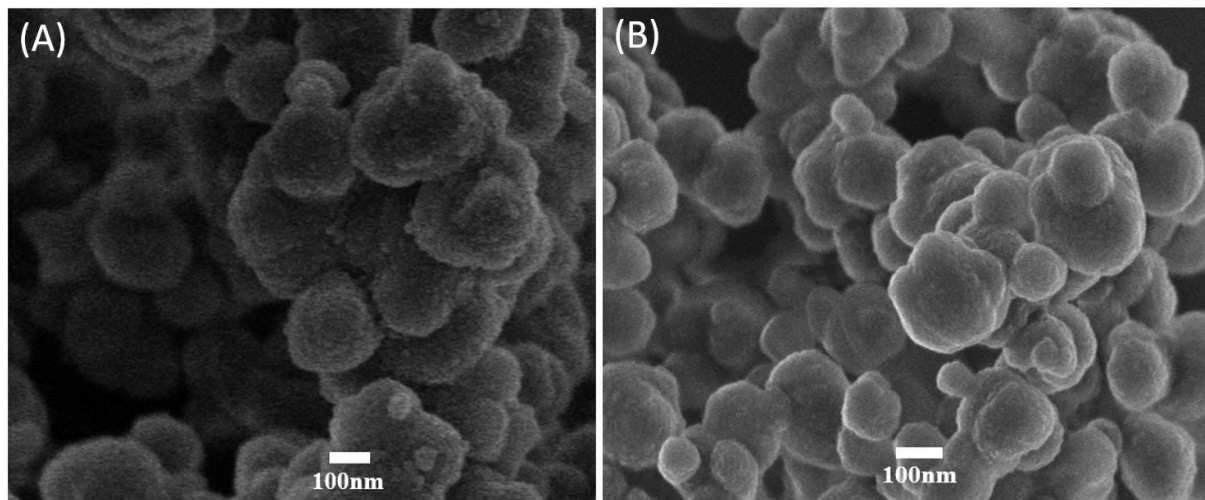


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

É possível observar que as nanopartículas estão aglomeradas, devido à atração magnética que estes materiais apresentam. Ademais, observa-se que as

nanopartículas com formato esférico apresentaram aspecto uniforme, com diâmetro médio de 15 nm (Imagem 10B).

Imagem 11: Micrografia dos polímeros sintetizados (A) mag-MIP e (B) mag-NIP.



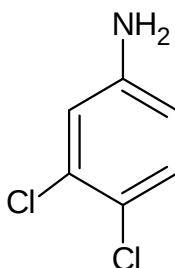
Fonte: elaborado pela Autora (2023).

A Imagem 11 apresenta as imagens realizadas para os polímeros mag-MIP e o mag-NIP sintetizados com o monômero funcional álcool alílico. Nelas, é possível observar um aumento no diâmetro das partículas, uma vez que ocorreu a modificação da magnetita e seu recobrimento com MIP. As imagens mostram que o mag-MIP apresentou partículas com diâmetro médio de 232 μm , enquanto o mag-NIP apresentou um diâmetro médio de 164 μm . Ademais, observou-se uma diferença superficial em termos de rugosidade do mag-MIP em relação ao mag-NIP, no entanto, outras diferenças morfológicas não foram visualizadas utilizando apenas as micrografias obtidas, pois o equipamento não é capaz de visualizar estruturas a nível molecular, não sendo possível, portanto, observar as cavidades seletivas do polímero sintetizado.

4.6.3. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

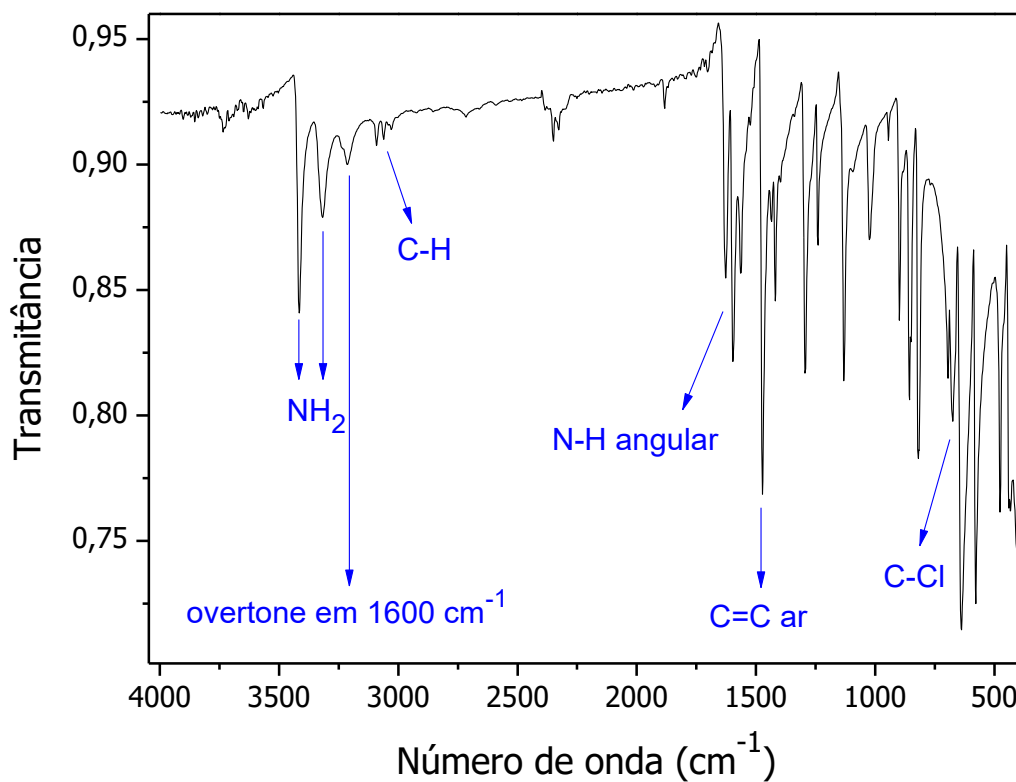
A princípio, analisou-se o espectro de IV da molécula 3,4-DCA, com a finalidade identificar as principais bandas de absorção dessa substância para que estas fossem comparadas posteriormente com o espectro de IV dos materiais sintetizados.

Figura 17: Molécula de 3,4-DCA.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Figura 18: Espectro de IV para a 3,4-DCA.

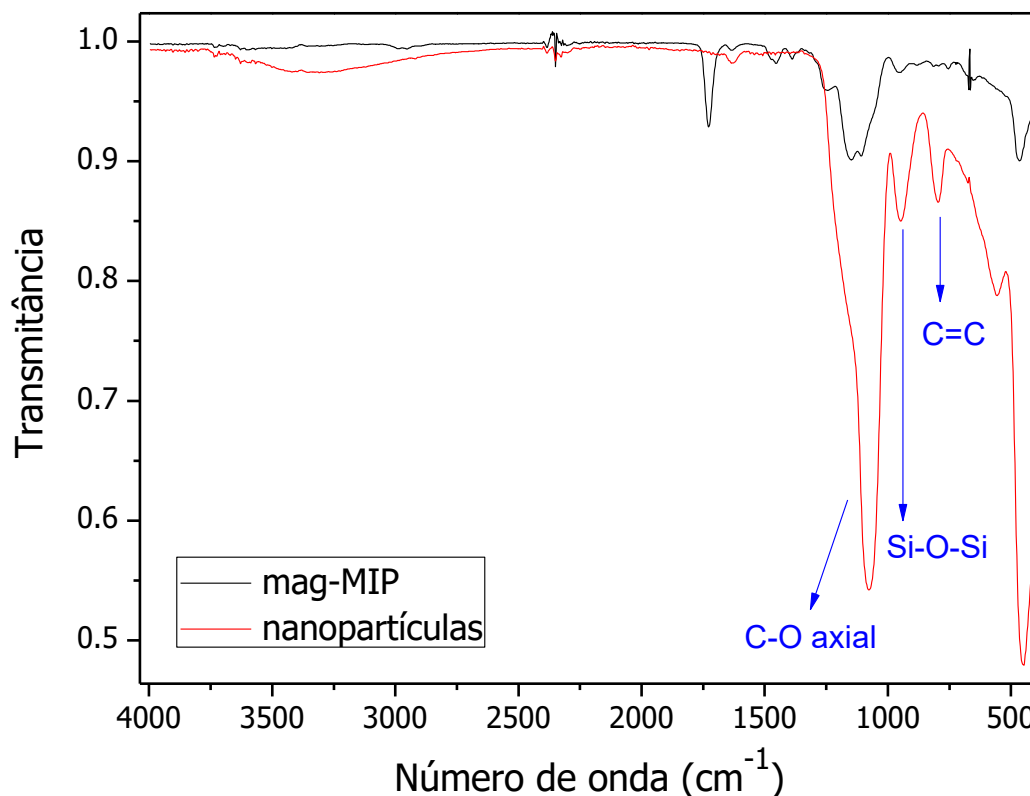


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

A partir do espectro da Figura 18, observou-se que as bandas de estiramento em 1462 e 1420 cm^{-1} é característica da ligação C=C de anel aromático, que segundo Paiva *et al.* (2012)³⁵, geralmente ocorre aos pares em 1600 e 1400 cm^{-1} . Além disso, também foi observado uma absorção em 3080 cm^{-1} , compatível com o estiramento Csp²-H presente na molécula. Sabendo que o produto de interesse é orto-substituído, esperava-se encontrar uma absorção forte em 750 cm^{-1} , correspondente ao desdobramento C-H para fora do plano referente a orto-substituição do anel, no entanto, não há bandas de estiramento significativas nesse intervalo. A absorção observada em 3417 e 3315 cm^{-1} refere-se às duas bandas de estiramento de deformação axial da ligação N-H presente na molécula, visto que aminas primárias costumam apresentar um duplete entre 3400-3180 cm^{-1} de acordo com Pavia *et al.* (2012)³⁵. Além disso, também foi observado um estiramento em 1600 cm^{-1} , referente à deformação angular da ligação N-H. Em frequências mais baixas, observa-se absorção característica em 660 cm^{-1} , sendo essa correspondente a ligação entre C-Cl, referente aos substituintes do anel aromático. Desta maneira, pode-se concluir que o espectro apresentado na Figura 18 confirma a estrutura da molécula 3,4-DCA (Figura 17).

Em seguida, realizou-se um estudo comparativo entre os espectros de IV das nanopartículas magnéticas de ferro sintetizadas com o mag-MIP (Figura 19).

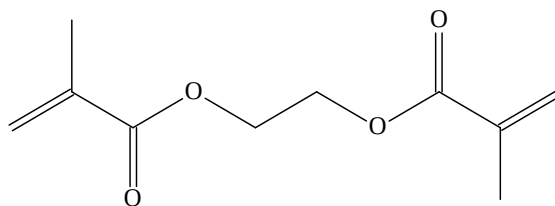
Figura 19: Espectro comparativo entre mag-MIP e as nanopartículas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C=C}$.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

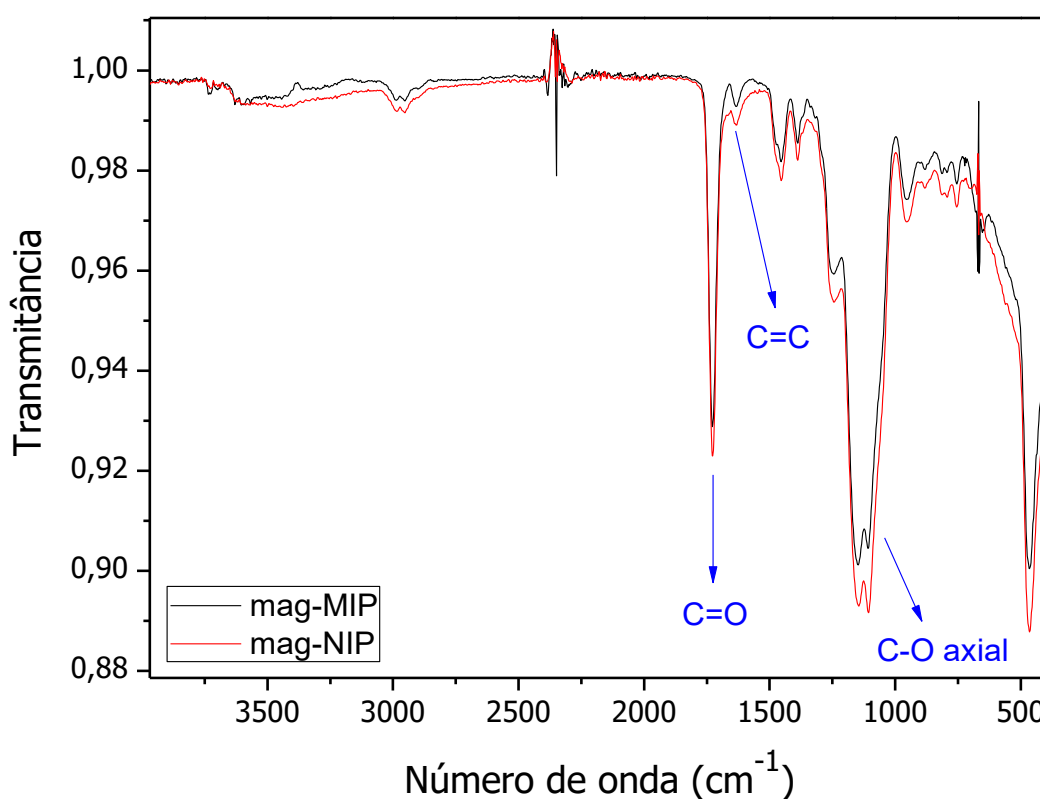
A partir do espectro da Figura 19, foi possível observar que o espectro em vermelho referente às nanopartículas, apresentou uma banda em 1000 cm^{-1} , que se refere ao estiramento da combinação Si-O-Si da sílica, que faz parte da composição das nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-C=C}$, uma vez que para realizar sua síntese, é necessário fazer o recobrimento da magnetita com a sílica. Ademais, destaca-se também uma banda em 800 cm^{-1} , onde essa indica as ligações duplas C=C do sítio orgânico-funcional da molécula, dado através da adição do MPS na síntese do material. Além disso, também se observa uma banda forte em 1050 cm^{-1} , sendo essa referente ao estiramento C-O presente na composição das nanopartículas, visto que Pavia *et al.* (2012)³⁵ relata que essa ligação apresenta banda de alta amplitude na faixa de 1260-1000 cm^{-1} .

Figura 20: Molécula do monômero estrutural EGDMA.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Figura 21: Espectro de IV dos polímeros sintetizados (mag-MIP e mag-NIP).



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Na Figura 21, observa-se o mesmo perfil de bandas para ambos os polímeros impressos, sendo possível destacar duas bandas: (I) em 1742 cm^{-1} , sendo essa banda referente ao estiramento C=O presente na molécula, visto que esse tipo de ligação apresenta banda forte na faixa de $1750\text{ a }1708\text{ cm}^{-1}$ de acordo com Pavia *et al.* (2012)³⁵; (II) em 1150 cm^{-1} , referente ao estiramento C-O, visto que Pavia *et al.* (2012)³⁵ relata que essa ligação apresenta banda forte na faixa de $1260\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$. Essas duas bandas características são atribuídas principalmente pelo monômero estrutural (EGDMA) que compõem a maior parte da estrutura do polímero, cuja

estrutura molecular apresenta o grupo funcional éster, como representado na Figura 20, confirmando assim que houve a polimerização do material. Outro ponto que chama atenção é a banda de baixa intensidade em 1643 cm^{-1} , referente à ligação C=C. A explicação para esse fato está atrelada ao processo de síntese do polímero, uma vez que a ligação dupla entre os carbonos é quebrada pelo iniciador radicalar AIBN para poder dar início a polimerização do material. Ademais, destaca-se também o fato de que não haver quaisquer indícios das bandas características da 3,4-DCA no espectro do mag-MIP, indicando que o polímero sintetizado foi devidamente lavado.

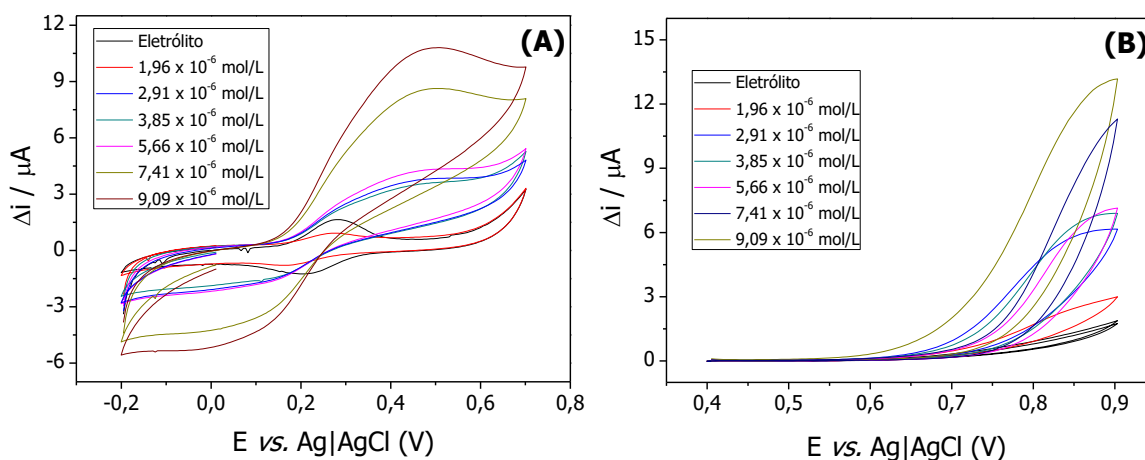
4.7. Desenvolvimento do sensor eletroquímico

Após ter demonstrado a eficiência do mag-MIP na detecção da 3,4-DCA através do método cromatográfico, prosseguiu-se com o desenvolvimento do sensor eletroquímico. Para isto, utilizou-se o mag-MIP como modificador em um eletrodo de pasta de carbono. Os primeiros experimentos eletroquímicos tiveram como finalidade encontrar em que potencial ocorria a resposta eletroquímica da 3,4-DCA e em qual técnica eletroquímica o sinal possuía a melhor resposta.

4.7.1. Detecção eletroquímica da 3,4-DCA

Com o objetivo de detectar a 3,4-DCA em um sistema eletroquímico, utilizou-se inicialmente a técnica de voltametria cíclica (VC). A princípio, foram realizados testes preliminares com o eletrodo de trabalho preenchido somente com uma pasta de carbono contendo grafite e óleo nujol, a fim de verificar o comportamento eletroquímico do analito. Utilizou-se dois tipos de eletrólito suporte: (A) solução de tampão fosfato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,0; (B) solução de KCl $0,1\text{ mol L}^{-1}$. As adições do analito foram feitas a partir de 6 adições sucessivas de solução estoque de 3,4-DCA de concentração de $1,0 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$. Os resultados obtidos foram mostrados na Figura 22.

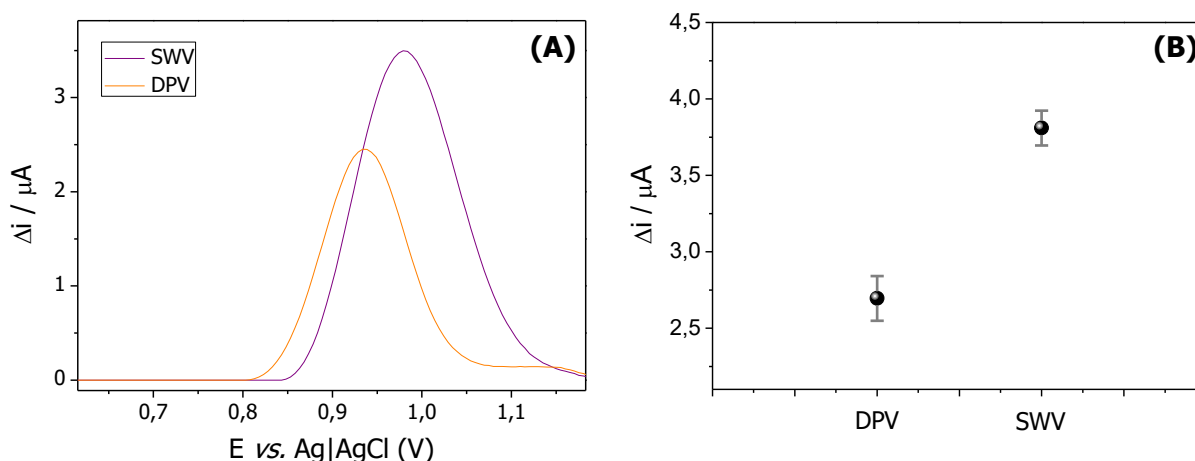
Figura 22: Voltamograma cíclico contendo (A) tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7 como eletrólito suporte; (B) KCl 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

De acordo com os resultados utilizando a técnica de voltametria cíclica, observou-se que os picos obtidos, em ambos os casos, não se formaram. Além disso, também não se observou um aumento linear entre corrente e concentração, não sendo possível a detecção da 3,4-DCA por essa técnica. Deve-se enfatizar que a técnica de voltametria cíclica é geralmente utilizada para caracterização eletroquímica, sendo a quantificação realizada com as técnicas de pulso como voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial. Ademais, ainda é possível, pela observação do sinal eletroquímico das técnicas de pulso, obter as informações análogas àquelas obtidas utilizando a voltametria cíclica, porém, com uma sensibilidade maior devido à minimização da contribuição da corrente capacitiva. Dessa maneira, optou-se por realizar um estudo para verificar qual técnica de pulso seria a mais adequada para detectar e quantificar a 3,4-DCA. A Figura 23 mostra o estudo comparativo entre as técnicas de voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ), utilizando a solução fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7 como eletrólito suporte.

Figura 23: Comparação entre as técnicas eletroanalíticas VOQ e VDP contendo a solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte e uma concentração de $1,96 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de 3,4-DCA. (A) Valores da corrente de pico; (B) Valores das médias e seus respectivos desvios das medidas realizadas em triplicata. Condições da VOQ: A= 75 mV, $\Delta E= 5$ mV e f= 15 Hz.



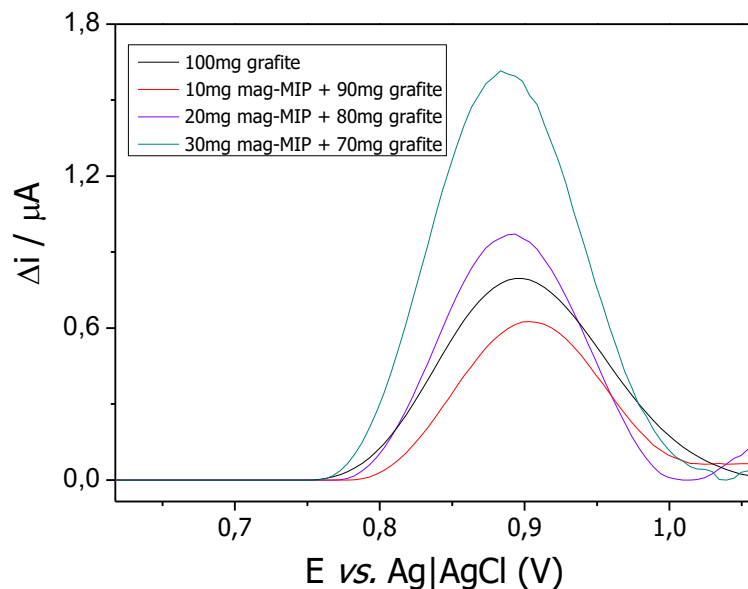
Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Pode-se observar que a técnica de VOQ foi a que apresentou os melhores resultados, visto que durante as análises apresentou maior sinal de corrente, sendo essa, portanto, a técnica escolhida para dar continuidade com as medidas eletroquímicas.

4.7.2. Otimização da resposta do sensor

Para obter a pasta de carbono modificada que irá compor o eletrodo de trabalho nas análises eletroquímicas, foi necessário realizar um estudo a fim de verificar a proporção mais adequada entre pó de grafite e mag-MIP, com o objetivo de obter a maior eficiência no sensor eletroquímico. A Figura 24 mostra os resultados obtidos para as pastas estudadas.

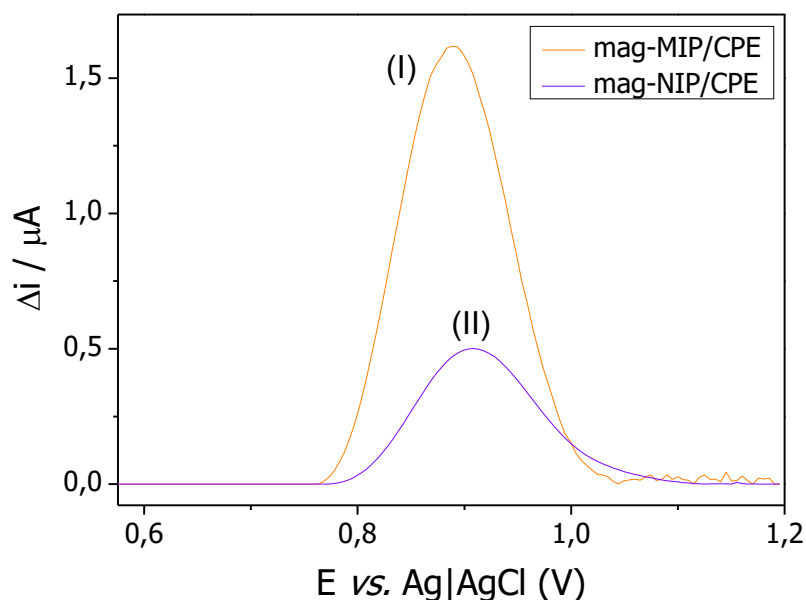
Figura 24: Estudo de otimização da pasta de carbono modificada com mag-MIP feita através da VOQ, contendo tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e uma concentração de $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. Condições da VOQ: $A = 75 \text{ mV}$, $\Delta E = 5 \text{ mV}$ e $f = 15 \text{ Hz}$.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

A partir disso, foi possível afirmar que houve um aumento na sensibilidade do sensor conforme houve o aumento de mag-MIP adicionado na pasta modificada que compõe o eletrodo. Ademais, a pasta modificada contendo 30 mg de mag-MIP e 70 mg de pó de grafite, foi a que apresentou o maior sinal de corrente de pico, sendo essa, portanto, a proporção escolhida para as análises eletroquímicas. Além disso, foi realizado um estudo para verificar a eficiência da adsorção do analito na superfície do eletrodo, sendo feita uma comparação da resposta analítica do eletrodo de pasta de carbono modificada com 70 mg de pó de grafite e (I) 30 mg de mag-MIP; (II) 30 mg de mag-NIP (Figura 25). Dessa maneira, foi possível observar que o sensor que continha mag-MIP na composição da pasta, apresentou maior corrente de pico quando comparado com o sensor contendo mag-NIP, evidenciando que as cavidades seletivas do mag-MIP propiciaram maior reconhecimento da 3,4-DCA.

Figura 25: Voltamograma de onda quadrada da pasta de carbono modificada nas condições otimizadas em uma concentração de $1,96 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. (I) 70 mg de pó de grafite + 30 mg de mag-NIP; (II) 70 mg de pó de grafite + 30 mg de mag-NIP. Condições da VOQ: $A = 75 \text{ mV}$, $\Delta E = 5 \text{ mV}$ e $f = 15 \text{ Hz}$.

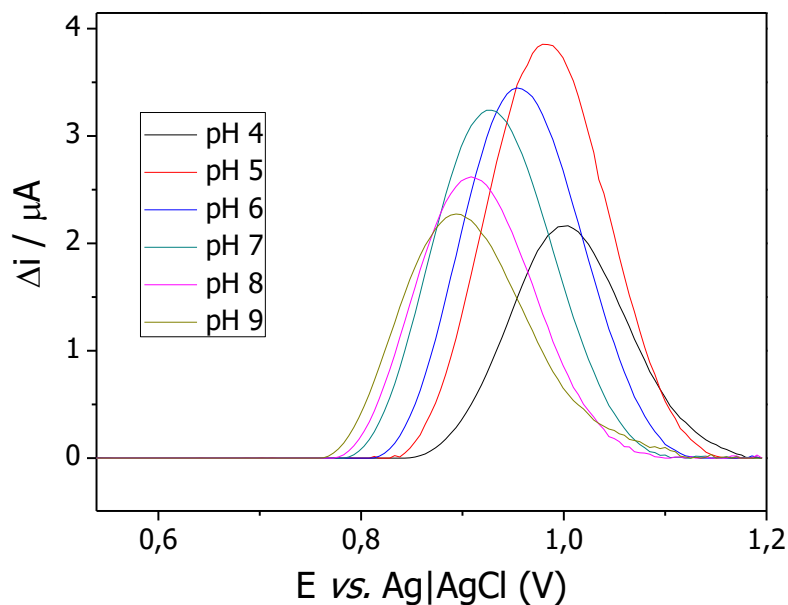


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

4.7.3. Influência do pH na voltametria de onda quadrada (VOQ)

No estudo de pH foi analisado a solução fosfato entre o intervalo de pH 4 e pH 9 em presença de 3,4-DCA na concentração de $9,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando a técnica de VOQ. De acordo com a Figura 26, ficou evidente que a solução de pH 5 obteve o maior sinal de corrente de pico anódica, sendo esse pH escolhido para as análises eletroquímicas. Além disso, sabendo que o pK_a da 3,4-DCA tem o valor de 2,97 a 25°C , isto é, sabendo que o pK_a do analito é menor que o pH da solução, diz-se que a molécula se encontra predominantemente na sua forma desprotonada.

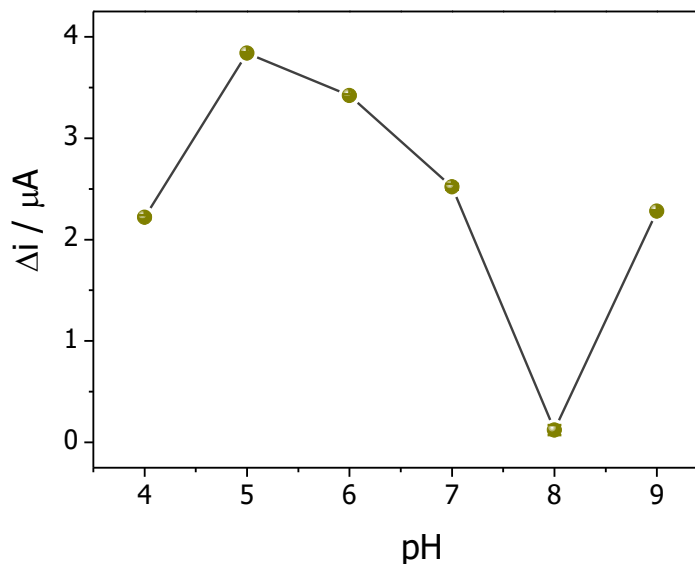
Figura 26: Voltamograma de onda quadrada contendo a solução fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pH em uma concentração de $9,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. Condições da VOQ: $A = 75 \text{ mV}$, $\Delta E = 5 \text{ mV}$ e $f = 15 \text{ Hz}$.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

Vale ressaltar que o estudo da influência de pH foi realizado para obter o melhor meio reacional. Para isto, o estudo de pH foi feito com soluções do pH 4 para o pH 9, e, posteriormente, realizou-se um novo estudo indo do pH 9 para o pH 4, a fim de verificar se houve efeito de memória. Dessa maneira, a Figura 27 evidencia a média dos valores de corrente obtidos em ambos os estudos, considerando os valores de triplicatas para cada pH, além dos seus respectivos desvios, confirmando que a solução fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5 foi a que obteve o melhor sinal analítico.

Figura 27: Estudo da resposta do sensor em diferentes valores de pH contendo os valores médios e seus respectivos desvios atribuídos. Condições da VOQ: A= 75 mV, $\Delta E= 5\text{mV}$ e $f= 15\text{ Hz}$.

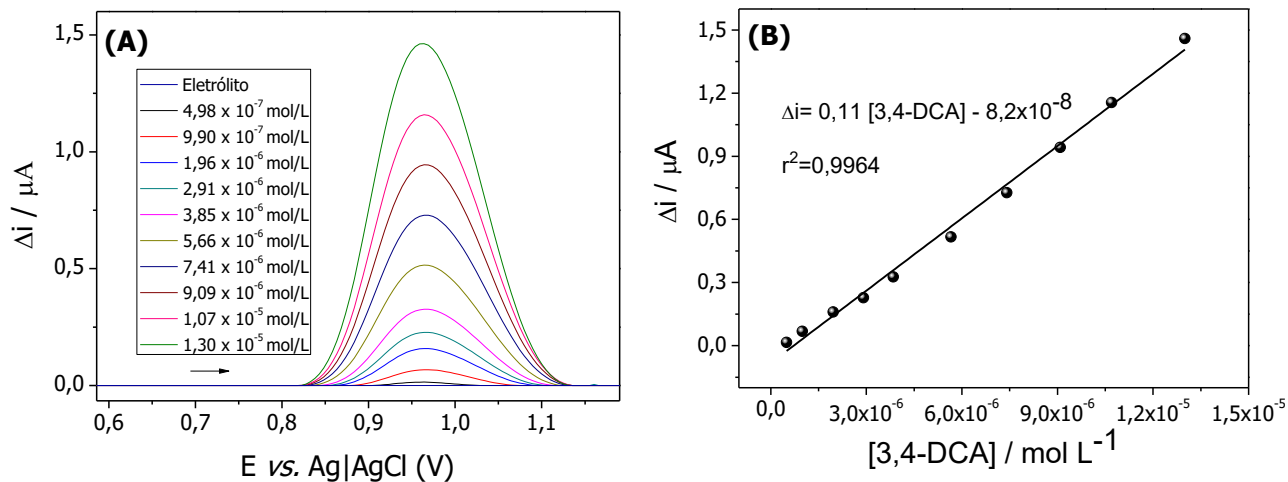


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

4.7.4. Curva de calibração do sensor eletroquímico modificado com mag-MIP

Nas condições otimizadas, o sensor proposto apresentou uma resposta linear entre $5,0 \times 10^{-7} - 1,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e limites de detecção de $8,9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 28). Dessa maneira, conclui-se que os resultados obtidos com o eletrodo de pasta de carbono modificado mostraram uma faixa linear de resposta satisfatória, principalmente quando comparado a outros trabalhos reportados na literatura^{36,37}. Outra característica que torna este dispositivo relativamente mais vantajoso em comparação com os outros descritos na literatura é a capacidade de renovação da superfície do eletrodo através de um simples polimento em papel sulfite, tornando o uso do sensor proposto viável em numerosas análises.

Figura 28: (A) Voltamograma de onda quadrada do sensor proposto em diferentes concentrações de 3,4-DCA, utilizando como eletrólito suporte solução fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5,0; (B) Curva analítica. Condições da VOQ: A= 75 mV, ΔE = 5mV e f= 15 Hz.

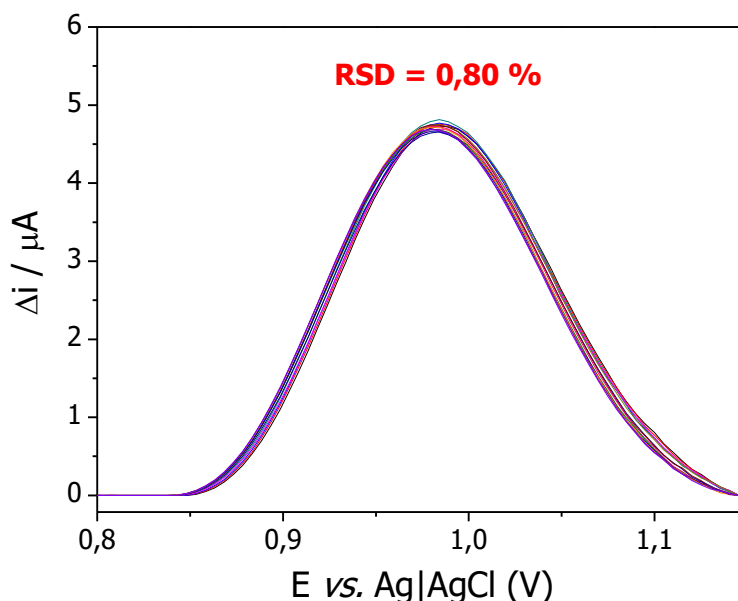


Fonte: elaborado pela Autora (2023).

4.7.5. Estudo de repetibilidade

A fim de verificar a repetibilidade e confiabilidade das medidas eletroquímicas dadas pelo sensor modificado com mag-MIP, realizou-se o estudo de repetibilidade com 15 medidas eletroquímica usando uma concentração de $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de 3,4-DCA (Figura 29). O desvio padrão relativo (RSD) obtido foi de 0,80%, indicando, portanto, uma alta confiabilidade do sensor na análise do analito de interesse.

Figura 29: Estudo de repetibilidade do sensor modificado com mag-MIP frente à uma concentração de $4,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de 3,4-DCA. Condições da VOQ: A= 75 mV, $\Delta E = 5 \text{ mV}$ e $f = 15 \text{ Hz}$.



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

4.7.6. Estudo de interferentes

Sabendo-se que o sensor desenvolvido possui aplicabilidade ambiental, fez-se necessário realizar estudos com a finalidade de identificar possíveis substâncias que pudessem interferir na resposta do analito de interesse. Como as matrizes ambientais geralmente são muito complexas e possuem várias substâncias, escolheu-se estudar a interferência dos pesticidas como o diuron, o 2,4-D, o carbofurano e o glifosato durante as análises do sensor, além do medicamento captopril, do corante tartrazina, do hormônio 17- α etinilestradiol (EE2) e dos metais Cd (II) e Pb (IV). As análises foram feitas na proporção molar 1:1; 1:10 e 10:1, sendo analito e interferente, respectivamente. Em todos os testes realizados, o sinal do analito de interesse não teve alteração significativa diante de nenhum dos interferentes estudados, em nenhuma das proporções analisadas, confirmando, dessa maneira, que o sensor quimicamente modificado é sensível e seletivo para 3,4-DCA.

4.7.7. Aplicação do sensor em amostras reais

A aplicabilidade do sensor para detecção da 3,4-DCA foi testada em três amostras ambientais: (I) água de rio (Mogi-Guaçu); (II) água de torneira; (III) amostra de solo. A determinação eletroquímica do analito de interesse foi realizada através da técnica de VOQ e os resultados obtidos nas análises de recuperação foi próxima a 100%, indicando que não houve efeito de matriz nem influência de alguma substância química na resposta eletroquímica do sensor (Tabela 1). Além disso, pode-se observar que os resultados obtidos com o método proposto estão de acordo com o valor obtido pelo HPLC-UV (método comparativo), demonstrando assim a viabilidade do método proposto.

Tabela 1: Determinação eletroquímica de 3,4-DCA em amostras ambientais.

Amostras	Concentração adicionada / mol L ⁻¹	Método comparativo (HPLC) / mol L ⁻¹	Método proposto (Eletroquímica) / mol L ⁻¹	Recuperação** (sensor, %)	Erro*** (%)
		Encontrado*	Encontrado*		
Água de rio (Mogi-Guaçu)	$2,0 \times 10^{-6}$	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^{-6}$	99,8	+5,3
	$1,0 \times 10^{-5}$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^{-5}$	$(1,0 \pm 0,4) \times 10^{-5}$	100	0,0
Água de torneira	$2,0 \times 10^{-6}$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	98,2	-5,0
	$1,0 \times 10^{-5}$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^{-5}$	$(9,9 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	99,6	-1,0
Solo	$2,0 \times 10^{-6}$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	97,0	-5,0
	$1,0 \times 10^{-5}$	$(9,9 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	$(9,8 \pm 0,1) \times 10^{-6}$	98,5	-1,0

*Média da medida de 3 concentrações

**Porcentagem de recuperação = [Encontrado/Adicionado] x 100

***Erro relativo = [(Método proposto – Método comparativo) / (Método comparativo)] x 100

Fonte: elaborado pela Autora (2023).

5. CONCLUSÃO

A partir dos polímeros sintetizados a fim de detectar e quantificar a 3,4-DCA em amostras ambientais, o material que possuía o monômero funcional álcool alílico em sua estrutura foi o que apresentou melhores resultados frente àquele sintetizado com o monômero funcional ácido metacrílico. Ademais, estudos para encontrar as condições de otimização de concentração de analito, proporção de solvente, tempo de adsorção e massa de polímero foram feitos para que o mag-MIP pudesse ser o mais sensível e seletivo possível para o analito de interesse nas análises cromatográficas.

Deu-se sequência com a caracterização morfológica dos materiais sintetizados sendo realizada a partir das análises de microscopia confocal e microscopia eletrônica de varredura, e a caracterização química feita através da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).

Após a demonstração de eficiência do mag-MIP na detecção da 3,4-DCA através do método cromatográfico, prosseguiu-se com o desenvolvimento do sensor eletroquímico, utilizando, para isto, o mag-MIP como modificador em um eletrodo de pasta de carbono. Estudos iniciais mostram as melhores condições para as análises eletroquímicas na detecção do analito, sendo a voltametria de onda quadrada a melhor técnica e a solução fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5 a melhor solução eletrolítica. Após estudos de otimização da pasta de carbono modificada, realizou-se a construção de uma curva de calibração do sensor proposto, onde este apresentou uma resposta linear entre $5,0 \times 10^{-7}$ – $1,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, e limites de detecção de $8,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Posteriormente, um estudo de repetibilidade foi realizado, obtendo-se um desvio de 0,8%, conferindo boa confiabilidade nas medidas eletroquímicas do sensor. Ademais, um estudo de interferentes em diferentes proporções foi feito com a finalidade de identificar as possíveis substâncias que pudessem interferir na resposta do analito durante as análises. No entanto, dentre todas as substâncias estudadas, nenhuma interferiu significativamente no sinal da 3,4-DCA, concluindo que o sensor seria promissor para obter resultados bons e confiáveis em amostras reais. Por fim, o sensor foi testado em três tipos diferentes de amostras ambientais: (I) água de torneira; (II) água do rio Mogi-Guaçu e (III) amostra de solo. Os resultados obtidos em todas as análises de recuperação foram próximos a 100%, indicando que não houve

efeito de matriz nem influência de qualquer substância química na resposta eletroquímica do sensor. Ademais, observou-se que os resultados obtidos com o método proposto estão de acordo com o valor obtido pelo HPLC-UV (método comparativo), demonstrando assim a viabilidade do método proposto para detectar e quantificar a 3,4-DCA.

Em suma, o mag-MIP sintetizado utilizando o álcool alílico como monômero funcional pode ser usado para realizar a detecção seletiva da 3,4-DCA como elemento de reconhecimento em sensores, caracterizando-se como um método simples, estável e relativamente barato em comparação com os métodos de detecção convencionais.

REFERÊNCIAS

- ¹FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Pesticides Use**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>. Acesso em: 07 de outubro de 2023.
- ²MORAES, R. F. de. Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória. **Texto para discussão / Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (ipea)**. 2019.
- ³FRIEDRICH, K. *et al.* Situação regulatória internacional de agrotóxicos com uso autorizado no Brasil: potencial de danos sobre a saúde e impactos ambientais. **Caderno de Saúde Pública**. 2021. DOI 10.1590/0102-311X00061820.
- ⁴BRINCO, J. *et al.* Analysis of pesticide residues in soil: A review and comparison of methodologies. **Microchemical Journal**, v. 195, 2023. DOI 10.1016/2023.109465.
- ⁵CANCINO, J. *et al.* Occupational exposure to pesticides and symptoms of depression in agricultural workers. A systematic review. **Environmental Research**, v. 231, n. 2, 2023. DOI 10.1016/2023.116190.
- ⁶ZANCHI, M. M.; MARINS, K.; ZAMONER, A. Could pesticide exposure be implicated in the high incidence rates of depression, anxiety and suicide in farmers? A systematic review. **Environmental Pollution**, v. 331, n. 2, 2023. DOI 10.1016/2023.121888.
- ⁷STAMATI, N. *et al.* Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. **Journal Frontiers in Public Health**, v. 4, 2016. DOI 10.3389/fpubh.2016.00148.
- ⁸MEROTTO, A. *et al.* Herbicide use history and perspective in South America. **Advances in Weed Science**, v. 40, 2022. DOI 10.51694/2022.4075010.
- ⁹BRUSSLAN, J.; HASELKORN, R. Resistance to the photosystem II herbicide diuron is dominant to sensitivity in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. **The EMBO Journal**, v. 8, p. 1237-1245, 1989.
- ¹⁰INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Painéis de informações de agrotóxicos**. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis->

de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos#Painel-comercializacao. Acesso em: 10 de outubro de 2023.

¹¹GIACOMAZZI, S.; COCHET, N. Environmental impact of Diuron transformation: a review. **Chemosphere**, v. 56, p. 1021-1032, 2004.

¹²HANSEN, B. H. *et al.* Atlantic cod (*Gadus morhua*) embryos are highly sensitive to short-term 3,4-dichloroaniline exposure. **Toxicology Reports**, v. 8, p. 1754-1761, 2021. DOI 10.1016/2021.10.006.

¹³RODRIGUES, A. D. *et al.* N-acetylation of toxic aromatic amines by fungi: Strain screening, cytotoxicity and genotoxicity evaluation, and application in bioremediation of 3,4-dichloroaniline. **Journal of Hazardous Materials**, v. 441, 2022. DOI 10.1016/2022.129887.

¹⁴NARDO, F. di; ANFOSSI, L.; BAGGIANI, C. MIP-based immunoassays: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1277, 2023. DOI 10.1016/2023.341547.

¹⁵FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C. B.; ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, 2008.

¹⁶BEZERRA, L. C. R. *et al.* Polímeros molecularmente impressos: um referencial teórico. **Educação e pesquisa em química**, v. 1, 2022. DOI 10.37885/220308026.

¹⁷COELHO, M. K. L. *et al.* Sensores Eletroquímicos Baseados em Polímeros Impressos Molecularmente e a Determinação de Fármacos em Amostras Farmacêuticas e Biológicas. **Revista Virtual de Química**, 2018.

¹⁸TANG, Y. *et al.* Off-line magnetic Fe₃O₄@SiO₂@MIPs-based solid phase dispersion extraction coupling with HPLC for the simultaneous determination of olaquinox and its metabolite in fish muscle and milk samples. **Food Chemistry: X**, v. 17, 2023. DOI 10.1016/2023.100611.

¹⁹MIDDELEER, G. de; DUBRUEL, P.; SAEGER, S. de. Characterization of MIP and MIP functionalized surfaces: Current state-of-the-art. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p 71-85, 2016. DOI 10.1016/2015.11.007.

- ²⁰POMA, A.; TURNER, A. P. F.; PILETSKY, S. A. Advances in the manufacture of MIP nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, v. 8, p. 629-637, 2010. DOI 10.1016/2010.08.006.
- ²¹KARADURMUS, L. *et al.* Molecularly imprinted polymer (MIP)-Based sensing for detection of explosives: Current perspectives and future applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 155, 2022. DOI 10.1016/2022.116694.
- ²²BASAK, S.; VENKATRAM, R.; SINGHAL, R. S. Recent advances in the application of molecularly imprinted polymers (MIPs) in food analysis. **Food Control**, v. 139, 2022. DOI 10.1016/2022.109074.
- ²³LIU, J. *et al.* Novel molecularly imprinted polymer (MIP) multiple sensors for endogenous redox couples determination and their applications in lung cancer diagnosis. **Talanta**, v. 199, p. 573-580, 2019. DOI 10.1016/2019.03.018.
- ²⁴CLUBE DA QUÍMICA. **O que são sensores químicos?** Disponível em: <https://clubedaquimica.com/2023/02/19/o-que-sao-sensores-quimicos/>. Acesso em: 11 de outubro de 2023.
- ²⁵LOWINSOHN, D.; BERLOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, 2006.
- ²⁶MOSTAFIZ, B. *et al.* Molecularly imprinted polymer-carbon paste electrode (MIP-CPE)-based sensors for the sensitive detection of organic and inorganic environmental pollutants: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 32, 2021. DOI 10.1016/2021.e00144.
- ²⁷FERREIRA, A. A. P. *et al.* Eletrodo de pasta de carbono em mini cavidade de contato sólido. **Eclética Química**, v.36, n. 2, 2011.
- ²⁸AFSHARARA, H. *et al.* Molecularly imprinted polymer-modified carbon paste electrodes (MIP-CPE): A review on sensitive electrochemical sensors for pharmaceutical determinations. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 160, 2023. DOI 10.1016/2023.116949.

- ²⁹WANG, L.; PAGETT, M.; ZHANG, W. Molecularly imprinted polymer (MIP) based electrochemical sensors and their recent advances in health applications. **Sensors and Actuators Reports**, v. 5, 2023. DOI 10.1016/2023.100153.
- ³⁰BELUOMINI, M. A. *et al.* Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymer on nanostructured carbon materials: A review. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 840, p. 343-366, 2019. DOI 10.1016/2019.04.005.
- ³¹MELLO, P. C. M. de; LOBO, I.; YABE, M. J. S. Otimização de um método de extração ultra-sônica e análise CLAE para determinação de Diuron e seus metabólitos em solo de cultivo de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 30, n. 2, p. 107-116, 2009.
- ³²HUSSAIN, S.; KHAN, S.; GUL, S.; PIVIDORI, M. I.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. A novel core@shell magnetic melcular imprinted nanoparticles for selective determination of folic acid in different food samples. **Reactive & Functional Polymers**, p. 51-56, 2016.
- ³³CÓRDOVA, G. A. R. **Estudos sistemáticos da síntese de polímeros molecularmente impressos obtidos pelo método de precipitação e do tipo core@shell para determinação da tartrazina (yellow acid 23) visando o desenvolvimento de novos métodos de análise.** 2019. Tese (Mestrado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, 2019.
- ³⁴SERGE, M. *et al.* Electrochemical Determination of Diuron in Soil Using a Nanocrystalline Cellulose Modified Carbon Paste Electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, 2021. DOI 10.20964/2021.05.
- ³⁵PAVIA, D. *et al.* **Introdução à espectroscopia.** 4^a ed. Bellingham, Washington, 2012.
- ³⁶POLCARO, A. M. *et al.* Electrochemical degradation of diuron and dichloroaniline at BDD electrode. **Electrochimica Acta**, v. 49, p 649-656, 2004.
- ³⁷TSOCHATZIS, E. D. *et al.* Development and validation of na HPLC-DAD method for the simultaneous determination of most common rice pesticides in paddy water systems, **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 92, n. 5, p. 548–560, 2012.