

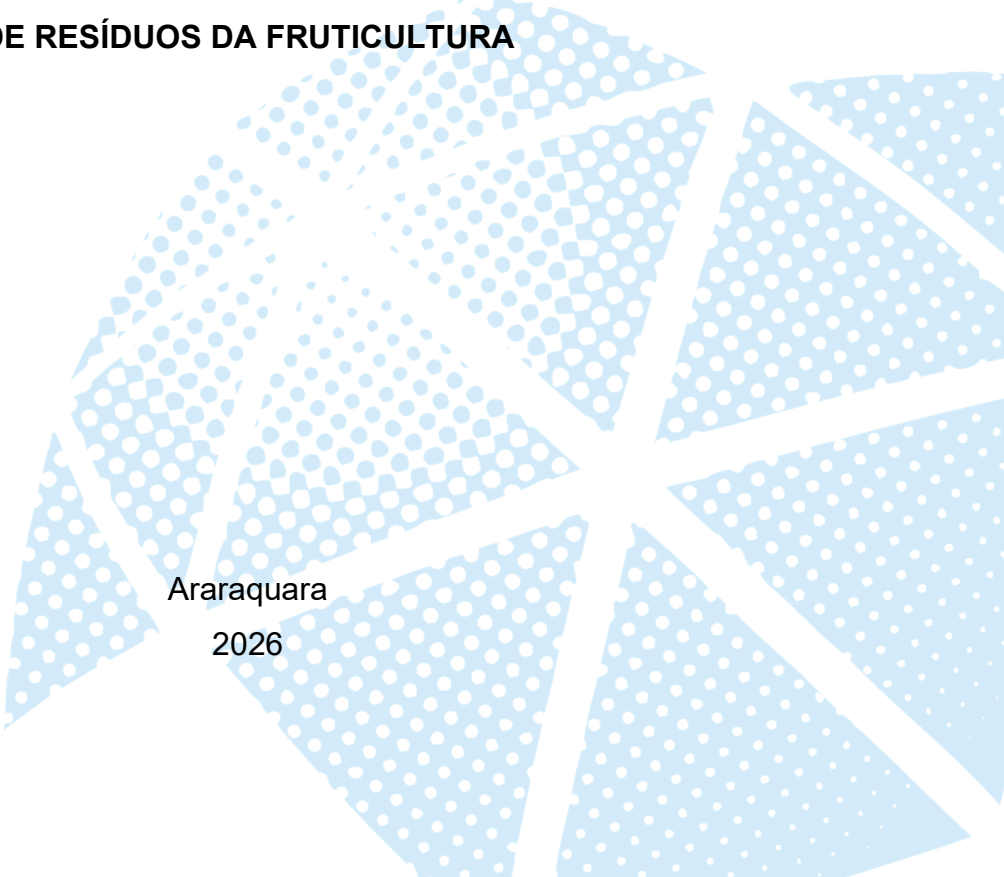
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

MATHEUS BISPO DE SOUZA

**SENSORES MOLECULARMENTE IMPRESSOS BASEADOS EM
POLIAMINOÁCIDOS PARA DETERMINAÇÃO DE BIOPRODUTOS ORIUNDOS
DE RESÍDUOS DA FRUTICULTURA**

Araraquara

2026



MATHEUS BISPO DE SOUZA

**SENSORES MOLECULARMENTE IMPRESSOS BASEADOS EM
POLIAMINOÁCIDOS PARA DETERMINAÇÃO DE BIOPRODUTOS ORIUNDOS
DE RESÍDUOS DA FRUTICULTURA**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara, para obtenção do título de Doutor em Química.

Área de Concentração: Química analítica

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

Araraquara

2026

S729s Souza, Matheus Bispo de
Sensores molecularmente impressos baseados em poliaminoácidos para determinação de bioprodutos oriundos de resíduos da fruticultura / Matheus Bispo de Souza. -- Araraquara, 2026
181 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara
Orientador: Nelson Ramos Stradiotto

1. Detectores eletroquímicos. 2. Impressão molecular. 3. Aminoácidos. 4. Frutas Cultivo. 5. Materiais nanoestruturados. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O trabalho apresenta impactos importantes para a sociedade utilizando conceitos de sustentabilidade, inovação tecnológica e valorização de resíduos, pois está alinhado a diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) [1]. Dispositivos eletroquímicos do tipo MIP que utilizam os aminoácidos glicina e leucina como monômeros ao invés de compostos sintéticos, com o método de eletrossíntese contribui e muito para o avanço de tecnologias mais sustentáveis e menos dependentes de polímeros sintéticos e consumo de reagentes, atendendo ao ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis). Isso reduz os impactos ambientais da síntese química tradicional e promove o uso de compostos renováveis [1]. A utilização dos sensores na quantificação dos bioprodutos monoramnolípideo e xilotriose, que são moléculas produzidas a partir de resíduos da fruticultura, reforça estratégias de valorização de resíduos agroindustriais, contribuindo para o ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura) e o ODS 13 (Ação Contra a Mudança Global do Clima). Ao quantificar esses compostos o trabalho favorece o desenvolvimento de processos biotecnológicos mais controlados e eficientes, incentivando a transição para uma bioeconomia sustentável e circular [1]. A utilização de resíduos da fruticultura também está alinhado ao ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), pois ajuda a promover redes produtivas mais eficientes e sustentáveis, com redução de desperdícios [1]. O uso de sensores sensíveis e seletivos contribui para o controle de qualidade em processos industriais e ambientais, impactando positivamente o ODS 6 (Água Potável e Saneamento), pois possibilita o monitoramento de compostos em diferentes matrizes [1]. A revisão sobre o uso de aminoácidos como monômeros em sensores MIP aumenta o conhecimento científico na área, incentivando o desenvolvimento de novas tecnologias verdes e fortalecendo a pesquisa interdisciplinar. Esta pesquisa não apenas contribui para avanços científicos, como também promove soluções alinhadas às demandas globais por sustentabilidade, inovação e uso eficiente de recursos naturais.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This work presents important impacts for society using concepts of sustainability, technological innovation, and waste valorization, as it is aligned with several Sustainable Development Goals (SDGs) [1]. Electrochemical devices of the MIP type that use the amino acids glycine and leucine as monomers instead of synthetic compounds, with the electrosynthesis method, contribute significantly to the advancement of more sustainable technologies that are less dependent on synthetic polymers and reagent consumption, meeting SDG 12 (Responsible Consumption and Production). This reduces the environmental impacts of traditional chemical synthesis and promotes the use of renewable compounds [1]. The use of sensors in the quantification of the bioproducts monorhamnolipid and xylotriose, which are molecules produced from fruit farming waste, reinforces strategies for valorizing agro-industrial waste, contributing to SDG 9 (Industry, Innovation and Infrastructure) and SDG 13 (Climate Action). By quantifying these compounds, the work favors the development of more controlled and efficient biotechnological processes, encouraging the transition to a sustainable and circular bioeconomy [1]. The use of fruit farming waste is also aligned with SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture), as it helps to promote more efficient and sustainable production networks, with a reduction in waste [1]. The use of sensitive and selective sensors contributes to quality control in industrial and environmental processes, positively impacting SDG 6 (Clean Water and Sanitation), as it enables the monitoring of compounds in different matrices [1]. The review on the use of amino acids as monomers in MIP sensors increases scientific knowledge in the area, encouraging the development of new green technologies and strengthening interdisciplinary research. This research not only contributes to scientific advances, but also promotes solutions aligned with global demands for sustainability, innovation and efficient use of natural resources.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Sensores molecularmente impressos baseados em poliaminoácidos para determinação de bioprodutos oriundos de resíduos da fruticultura"

AUTOR: MATHEUS BISPO DE SOUZA

ORIENTADOR: NELSON RAMOS STRADIOTTO

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



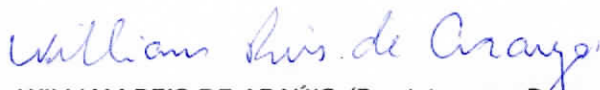
Prof. Dr. NELSON RAMOS STRADIOTTO (Participação Presencial)
Servidores Inativos de Unidades Administrativas Extintas / UNESP / Câmpus de Araraquara - IQAr



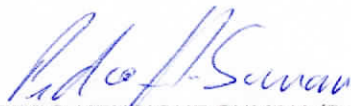
Prof. Dr. DENIS RICARDO MARTINS DE GODOI (Participação Presencial)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / UNESP / Câmpus de Araraquara - IQAr



Prof. Dr. ADRIANO DOS SANTOS (Participação Presencial)
Departamento de Física e Matemática / UNESP / Câmpus de Araraquara - IQAr



Prof. Dr. WILLIAM REIS DE ARAÚJO (Participação Presencial)
Departamento de Química Analítica / UNICAMP



Prof. Dr. PEDRO HENRIQUE SUMAN (Participação Presencial)
Departamento de Física e Ciência dos Materiais / Instituto de Física - USP - São Carlos

Araraquara, 06 de maio de 2026.

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO	
	MATHEUS BISPO DE SOUZA 17/03/1998
Nacionalidade	Brasileira
Nome em citações bibliográficas:	De Souza, Matheus bispo Souza, M. B.
Endereço profissional	Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Campus de Araraquara Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica Rua Francisco Degni, 55 Jardim Quitandinha, Araraquara – SP CEP 14800-900 Telefone: (16) 3301-9581
Currículo Lattes	http://lattes.cnpq.br/2147976884697893
ORCID	https://orcid.org/0000-0003-1173-7887
outro identificador	https://scholar.google.com/citations?hl=pt-BR&authuser=1&user=CvCZibMAAAAJ
FORMAÇÃO ACADÊMICA	
2016/2019	Química licenciatura – Graduação Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS)
2020/2022	Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais - Mestrado Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS)
2022/2026	Programa de Pós-graduação em Química - Doutorado Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)
FORMAÇÃO COMPLEMENTAR	
2016/2017	Iniciação Científica - Utilização de microesferas de carbono vítreo oxidada na preparação de eletrodos (PIBIC/UEMS)

2017/2018	Iniciação Científica - Incorporação de nanoesferas de carbono vítreo em eletrodos de pasta de carbono para avaliar o comportamento eletroquímico de compostos fenólicos (PIBIC/UEMS)
2018/2018	Minicurso - Transições eletrônicas e vibracionais (UEMS)
2018/2019	Iniciação Científica - Modificação de carbono vítreo com nanotubos de carbono oxidado para determinação de fenol em amostras de água (PIBIC/UEMS)
2021/2021	Curso - Extensão universitária em Python para Processamento de Linguagem Natural: Edição Comemorativa dos 50. Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação (ICMC-USP)
PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	
DE SOUZA, M. B.; SANTOS, J. S.; PONTES, M. S.; NUNES, L. R.; OLIVEIRA, I. P.; LOPEZ AYME, A. J.; SANTIAGO, E. F.; GRILLO, R.; FIORUCCI, A. R.; DE ARRUDA, G. J.. CeO₂ nanostructured electrochemical sensor for the simultaneous recognition of diethylstilbestrol and 17β-estradiol hormones. SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT, v. 805, p. 150348, 2022. SANTOS, J. S.; PONTES, M. S.; DE SOUZA, M. B.; FERNANDES, S. Y.; AZEVEDO, R. A.; DE ARRUDA, G. JOSÉ; SANTIAGO, E. F.. Toxicity of bisphenol A (BPA) and its analogues BPF and BPS on the free-floating macrophyte Salvinia biloba. CHEMOSPHERE, v. 343, p. 140235, 2023. BARROS, R. N.; DE SOUZA, M. B.; TRENKEL, F. A.; DUARTE, D. F.; LIMA, S. M.; ANDRADE, L. H. C.; DE ARRUDA, G. J.. New carbon-based voltammetric sensor modified with multi-walled carbon nanotubes decorated with europium oxide to determine triclosan. MATERIALS CHEMISTRY AND PHYSICS, v. 317, p. 129137, 2024. DE SOUZA, M. B.; DE ARAÚJO SOUZA, B. C.; STRADIOTTO, N. R.. Molecularly imprinted electrochemical sensor based on electropolymerized glycine under reduced graphene oxide for determination of monorhamnolipids. MICROCHEMICAL JOURNAL, v. 216, p. 114737, 2025.	
PARTICIPAÇÃO EM BANCAS E ORIENTAÇÕES	
Bancas de trabalhos de conclusão	
SANTOS, J. S.; DE SOUZA, M. B. Participação em banca de Letícia Rocha Nunes.	

Determinação voltamétrica do inseticida carbaril em amostras de água. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, 2021.

Orientações

BONIFÁCIO, M. F.. **Determinação de xilitol utilizando sensor eletroquímico modificado com L-glutamina eletropolimerizada em superfície de óxido de grafeno reduzido.** Nelson Ramos Stradiotto. 2023. Treinamento Técnico (BCO) – Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2023.

LOPES, E. S.. **Sensor eletroquímico molecularmente impresso utilizando eletropolimerização de L-Lisina em superfície contendo nanopartículas de ouro e óxido de grafeno reduzido para determinação de ácido levulínico em amostras oriundas do processamento da fruticultura.** Nelson Ramos Stradiotto. 2024. Iniciação Científica – Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2024.

BONIFÁCIO, M. F.. **Sensor eletroquímico molecularmente impresso utilizando eletropolimerização de L-Triptofano sobre superfície de óxido de grafeno reduzido com nanopartículas de Ouro para determinação γ -Valerolactona.** Nelson Ramos Stradiotto. 2025. Iniciação Científica – Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2025.

LOPES, E. S.. **Sensor Eletroquímico Molecularmente Impresso Utilizando Politreonina em Superfície Contendo Nanopartículas de Ouro e Óxido de Grafeno Reduzido para Determinação de Celobiose.** Nelson Ramos Stradiotto. 2024. Iniciação Científica – Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2026.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

III WORKSHOP DE FRUTO-REFINARIA, 2023, (Virtual). Molecularly imprinted sensor electrochemical based on poly(glycine) film for the determination of mono-rhamnolipids in fruit culture residues. 2023. (Oral/Poster).

XXIV SIBEE (Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica), 2023, (Porto Alegre – RS). Molecularly imprinted electrochemical sensor based on poly(glycine) film for the determination of mono-rhamnolipids produced from guava residues. 2023. (Oral).

IV WORKSHOP DE FRUTO-REFINARIA, 2024, (Virtual). Sensor eletroquímico baseado em filme de poli(glicina) com impressão molecular para determinação de monoramnolípídeos em resíduos de goiaba. 2024. (Oral).

21º ENQA (Encontro Nacional de Química Analítica), 2024, (Belém – PA). Determination of monorhamnolipid produced through bioelectrochemical systems using a molecularly printed electrochemical sensor of glycine and reduced graphene oxide. 2024 (Poster).

BBEST & IEA Bioenergy Conference 2024, (São Paulo – SP). Molecularly imprinted sensors in the quantification of bioproducts from fruit-refinery. 2024. (Poster).

V WORKSHOP DE FRUTO-REFINARIA, 2025, (Rio Claro – SP). Electrochemical sensor based on molecularly imprinted poly(leucine) film under reduced graphene oxide and Au nanoparticles for the determination of xylotriose in agrowaste. 2025. (Oral).

XXV SIBEE (Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica), 2025, (Águas de Lindóia – SP). Electrochemical sensor based on molecularly imprinted poly(leucine) film under reduced graphene oxide and Au nanoparticles for the determination of Xylotriose in agrowaste. 2025. (Poster).

Dedico este trabalho a todos que, de alguma maneira, contribuíram para a realização desta pesquisa — com apoio, palavras, gestos ou por permaneceram acreditando em mim. Minha gratidão.

E, em especial, à minha querida avó Guilhermina, cuja presença permanece viva em minha memória e em meu coração. 09/03/1941★ - 30/08/2025 †

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha família, base fundamental de toda a minha trajetória. Os meus pais, dona Alzenir e seu Valdir, pelo amor incondicional, pelos ensinamentos, pela paciência e pelo incentivo constante, mesmo nos momentos mais desafiadores. Ao meu irmão Maicon, à minha cunhada Kátia e à minha sobrinha Sofia, pelo apoio, carinho e compreensão ao longo deste percurso, tornando a caminhada mais leve e significativa.

Aos meus colegas de laboratório, expresso minha sincera gratidão pela convivência, pelas discussões científicas, pelo apoio técnico e humano e pelas experiências compartilhadas ao longo deste trabalho: Bruna Olsen, Max Falone, Bárbara Camila, Edervaldo Buffon (in memoriam), Maísa Beluomini, Miguel Bonifácio, Ellen Lopes e Leonel Co.

Aos amigos que estiveram presentes ao longo dessa jornada, agradeço o companheirismo, pelas palavras de incentivo e pelos momentos de descontração que foram essenciais para manter o equilíbrio durante esta etapa: Bruna Olsen, Nicolas Moreno, Katarina Nasralla e Murilo Amorim.

Ao meu afilhado, Ragnar Siqueira, agradeço por representar uma fonte constante de alegria, renovação e motivação, lembrando-me diariamente do valor dos sonhos e do futuro.

A Antonio Tertulino e Sergio Ricardo, deixo meu sincero agradecimento pela presença constante, pelo apoio ao longo do caminho e pelas contribuições que, de diferentes formas, foram fundamentais durante esta etapa da minha formação.

Por fim, manifesto minha profunda gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto, pela orientação segura, pela confiança depositada, pela disponibilidade, pelos ensinamentos científicos e pela contribuição fundamental para meu crescimento acadêmico e profissional. Sua dedicação e rigor científico foram essenciais para a realização deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desta tese, deixo aqui meu sincero agradecimento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo número de processo 88887.663933/2022-00.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio dos Processos nº 2017/22401-8 e 2023/01008-7.

Enfim, a todos que me ajudaram de alguma maneira para a realização desse trabalho.

“A ciência é a arte da descoberta; todo cientista
é, no fim, um artista da sua própria pesquisa.”

Matheus Bispo de Souza

RESUMO

A produção de resíduos oriundos da fruticultura tem impulsionado o desenvolvimento de estratégias sustentáveis para valorizar essa matéria-prima, sendo a principal forma por meio da conversão em bioprodutos de alto valor agregado, como ramnolipídios e xilooligossacarídeos. Nesse contexto, esta tese discute tanto o desenvolvimento experimental de sensores eletroquímicos baseados em polímeros molecularmente impressos (MIPs), com ênfase no uso de aminoácidos como monômeros funcionais, quanto faz uma revisão crítica a respeito da utilização de poliaminoácidos em sensores MIPs. Foram desenvolvidos dois sensores eletroquímicos: (i) um sensor baseado em poliglicina eletropolimerizada sobre óxido de grafeno reduzido (rGO) para a determinação de monoramnolipídios (Mono-RHL) e (ii) um sensor baseado em polileucina eletropolimerizada, associado a rGO e nanopartículas de ouro para a detecção de xilotriose (X3OS). Os sensores apresentaram excelente desempenho analítico, com limites de detecção de $2,1 \times 10^{-14}$ e $1,4 \times 10^{-15} \text{ mol L}^{-1}$ para i e ii respectivamente, ampla faixa linear de $5,0 \times 10^{-14}$ a $1,0 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ para Mono-RHL e de $0,5 \times 10^{-14}$ a $4,0 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$ para a X3OS, alta seletividade frente aos principais interferentes de cada classe. Ensaio em amostras reais de ramnolipídios produzido via bioeletroquímica e xilooligossacarídeos oriundos de conversão enzimática de resíduos de pseudo-caule de bananeira, mostraram elevadas taxas de recuperação (próximas de 100%) e concordância estatística com métodos cromatográficos, confirmando a aplicabilidade prática dos dispositivos. Os resultados reforçam o potencial dos poliaminoácidos como plataformas promissoras para o desenvolvimento de MIPs mais sustentáveis e eficientes, contribuindo para o avanço de sensores eletroquímicos aplicados à valorização de resíduos e ao monitoramento de bioprodutos, em consonância com os princípios da bioeconomia e da química verde. Uma revisão abrangente sobre o uso de poliaminoácidos na construção de MIPs foi elaborada, mostrando seu potencial como alternativa sustentável aos monômeros sintéticos tradicionais. A literatura mostra que esses materiais oferecem elevada versatilidade química, biocompatibilidade, estabilidade eletroquímica e diversidade de interações intermoleculares, favorecendo o reconhecimento seletivo de diferentes analitos. Além disso, destaca-se o crescimento recente dessa abordagem na área de sensores eletroquímicos, embora ainda existam

lacunas relacionadas à padronização de métodos, compreensão dos mecanismos de reconhecimento e ampliação das aplicações.

Palavras-chave: Sensores eletroquímicos; Polímeros molecularmente impressos; Poliaminoácidos; Resíduos da fruticultura; Nanomateriais.

ABSTRACT

The production of waste from fruit farming has driven the development of sustainable strategies to valorize this raw material, the main method being through conversion into high-value-added bioproducts, such as rhamnolipids and xylooligosaccharides. In this context, this thesis discusses both the experimental development of electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers (MIPs), with emphasis on the use of amino acids as functional monomers. It provides a critical review of the use of polyamino acids in MIP sensors. Two electrochemical sensors were developed: (i) a sensor based on electropolymerized polyglycine on reduced graphene oxide (rGO) for the determination of monorhamnolipids (Mono-RHL) and (ii) a sensor based on electropolymerized polyleucine, associated with rGO and gold nanoparticles, for the detection of xylotriose (X3OS). The sensors demonstrated excellent analytical performance, with detection limits of 2.1×10^{-14} and $1.4 \times 10^{-15} \text{ mol L}^{-1}$ for i and ii respectively, a wide linear range from 5.0×10^{-14} to $1.0 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ for Mono-RHL and from 0.5×10^{-14} to $4.0 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$ for X3OS, and high selectivity against the main interferences of each class. Assays on real samples of rhamnolipids produced via bioelectrochemistry and xylooligosaccharides from enzymatic conversion of banana pseudostem residues showed high recovery rates (close to 100%) and statistical agreement with chromatographic methods, confirming the practical applicability of the devices. The results reinforce the potential of polyamino acids as promising platforms for the development of more sustainable and efficient MIPs (Multi-Iron Sensors), contributing to the advancement of electrochemical sensors applied to waste valorization and bioproduct monitoring, in line with the principles of bioeconomy and green chemistry. A comprehensive review on the use of polyamino acids in the construction of MIPs was carried out, showing their potential as a sustainable alternative to traditional synthetic monomers. The literature shows that these materials offer high chemical versatility, biocompatibility, electrochemical stability, and diversity of intermolecular interactions, favoring the selective recognition of different analytes. Furthermore, the recent growth of this approach in the area of electrochemical sensors is highlighted, although gaps still exist related to method standardization, understanding of recognition mechanisms, and expansion of applications.

Keywords: Electrochemical sensors; Molecularly imprinted polymers; Polyamino acids; Fruit farming waste; nanomaterials.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Aminoácidos como Blocos de Construção para Sensores Molecularmente Impressos de Alta Performance.	44
Gráfico 2: Sensor molecularmente impresso a base de poliglicina e rGO para a quantificação de Mono-RHL.	107
Gráfico 3: Sensor eletroquímico baseado em filme de poli(leucina) com impressão molecular sobre rGO e AuNPs para a determinação de X3OS.....	130

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Produção continental e global das culturas de maçã, banana, uva, manga e laranja.....	28
Figura 2: Levantamento da produção nacional de banana, laranja e goiaba no ano de 2024.	30
Figura 3: Principais resíduos e compostos químico presentes nas culturas laranja, banana e goiaba.....	31
Figura 4: Esquema representando o ciclo que envolve a bioeconomia.	32
Figura 5: Tipos, características e aplicações de sensores eletroquímicos.	34
Figura 6: Nanoestruturas mais utilizados com modificadoras de sensores eletroquímicos.	35
Figura 7: Representação de um sistema MIP voltado para plataformas eletroquímicas. Fonte: Adaptada de Dmitriy Gritsok, et al., (2025).....	37
Figura 8: Reação peptídica, formação de PAAs.....	39
Figura 9: Estrutura geral e os 20 AAs formadores de proteína.	41
Figura 10: Histograma de avaliação de sensores com uso de filmes de PAAs (A), PAAs aplicados em sensores MIPs (B), e levantamentos dos AAs que foram utilizados em sensores MIPs (C).....	43
Figura 11: Duas conformações de poliglicina ocorrem no estado sólido: a PGI, β -sheet-like, e a PGII, com hélice 3_1 -estendida.....	53
Figura 12: Elucidação das interações monômero–analito em polímeros molecularmente impressos (MIPs) com base em cálculos de Teoria do Funcional da Densidade (DFT).	93
Figura 13: Perfil voltamétrico obtido após limpeza do GCE, utilizado como referência. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$; $[\text{KCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	99
Figura 14: Voltamograma cíclico para GCE na presença de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de Na_2SO_4 e $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ de GO. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	100
Figura 15: DPVs para os processos de extração (verde) e religação (amarelo) mostrando a variação de corrente entre os processos. $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $[\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	102
Figura 16: Estrutura molecular do Mono-RHL.	105

Figura 17: Comportamento eletroquímico do Mono-RHL em GCE. A) e B) CVs para as regiões catódica e anódica do GCE, respectivamente. [Mono-RHL] = $0,1 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; [PB] = 0,1 mol L ⁻¹ em pH 7; 100 mV s ⁻¹ ; N _{2(g)} por 15 min.	108
Figura 18: Estudo da eletropolimerização de glicina. A) CVs a 50 mV s ⁻¹ para as superfícies GCE, GCE/rGO, GCE/Gli e GCE/rGO+Gli. B) CVs do Primeiro e segundo ciclo em GCE/rGO; 50 mV s ⁻¹ . C) Diferentes velocidades de varredura em GCE/rGO+Gli. D) CVs do perfil final de eletropolimerização de Gly na presença de Mono-RHL. [Gly] = 10×10^{-6} mol L ⁻¹ [PB] = 0,1 mol L ⁻¹ pH 7.	109
Figura 19: Esquema do mecanismo de polimerização da glicina.	110
Figura 20: Análises MEV e EDS para A) GCE. B) GCE/rGO. C) GCE/rGO@MIP. D) GCE/rGO@NIP.	111
Figura 21: Análises FTIR para A) GCE/rGO; GCE/rGO@MIP e GCE/rGO@NIP. B) Primeira ampliação da região marcada em A. C) Segunda ampliação da região marcada em A. D) Terceira ampliação da região marcada em A. das modificações do sensor rGO, MIP e NIP.	113
Figura 22: Espectros XPS de alta resolução desconvoluídos para: A) C1s, B) O1s, C) N1s em GCE/rGO@Poli(Gli).	114
Figura 23: A) CVs para as etapas de formação de GCE/rGO@Poli(Gli); $\nu = 100$ mV s ⁻¹ ; K ₃ [Fe(CN) ₆] = $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ [KCl] = 0,5 mol L ⁻¹ . B) Diagrama de Nyquist para cada etapa na Figura A (linhas contínuas são ajustes).	115
Figura 24: CVs obtidos para 5×10^{-3} mol L ⁻¹ de K ₃ [Fe(CN) ₆]. A) GCE. B) GCE/rGO. C) GCE/rGO@Poli(Gli) D) I _p vs. $\nu^{1/2}$, GCE (azul), GCE/rGO (preto) e GCE/rGO@Poli(Gli) (vermelho). $\nu = 25; 50; 75; 100; 150; 200$ mV s ⁻¹	116
Figura 25: Otimização dos parâmetros A) Concentração de Mono-RHL; fixa: [Gli] = 10×10^{-6} mol L ⁻¹ . B) Número de ciclos de eletropolimerização. C) Tempo de extração em solução [Água:Etanol] na proporção de 9:1 para MIP e NIP. D) Tempo de religação em solução [Mono-RHL] = 1×10^{-7} mol L ⁻¹ para MIP e NIP. E) pH de religação....	118
Figura 26: Estudo de proporção entre água e etanol para a extração do Mono-RHL.	120
Figura 27: Curva de calibração com DPVs na faixa de $5,0 \times 10^{-14} - 1,0 \times 10^{-12}$ mol L ⁻¹ com inserção da variação de I _p em função da concentração para MIP e NIP (n = 3).	121

Figura 28: Estudo de seletividade de cavidade com impressão molecular de Mono-RHL (n = 3).....	123
Figura 29: A) Curva de adição padrão obtida pela aplicação à amostra. B) Voltamogramas de pulso diferencial (DPV) obtidos para a etapa de extração, adição da amostra e adição do padrão. $K_3[Fe(CN)_6] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$	125
Figura 30: A) Estudo de repetibilidade em diferentes GCE/rGO@Poli(Gli). B) Estabilidade intradiária para um GCE/rGO@Poli(Gli). C) Estudo de estabilidade interdiária para GCE/rGO@Poli(Gli). $[Mono-RHL] = 1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	126
Figura 31: Estrutura química da Xilotriose (X3OS).....	128
Figura 32: Voltamogramas cíclicos em GCE na presença de X3OS em GCE. A) Região catódica e B) Região anódica. $[X3OS] = 5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; Tampão [PB] = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7; $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	131
Figura 33: A) Perfil voltamétrico do GCE na presença e ausência de $HAuCl_4$ ($0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. B) CVs de ativação das CuNPs em NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	133
Figura 34: Comportamento eletroquímico do X3OS. Voltamogramas cíclicos (CVs) para as regiões catódica e anódica de A e B) GCE/Au; C e D) GCE/Cu, respectivamente. $[X3OS] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; [PB] = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7; 100 mV s^{-1} ; $N_{2(g)}$ por 15 min.....	134
Figura 35: Caracterização das etapas de modificação do sensor. A) CVs comparando de CuNPs e AuNPs na resposta eletroquímica da sonda Redox Fe^{3+}/Fe^{2+} . B) CVs para as superfícies GCE, GCE/rGO, GCE/Au e GCE/rGO/Au na sonda Redox Fe^{3+}/Fe^{2+} . ($5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) $[K_3[Fe(CN)_6]] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; 100 mV s^{-1}	135
Figura 36: Estudo da eletropolimerização de L-Leu. A) CVs após EP 1, 2 e 3 em GCE. B) Perfil de formação de P-Leu Ep 1. C) Perfil de formação de P-Leu Ep 2. D) Perfil de formação de P-Leu Ep 3.....	137
Figura 37: Estudo da eletropolimerização de L-Leu. A) CVs após EP 1, 2 e 3 em GCE/rGO. B) Perfil de formação de P-Leu Ep 1. C) Perfil de formação de P-Leu Ep 2. D) Perfil de formação de P-Leu Ep 3.....	137
Figura 38: Estudo da eletropolimerização de L-Leu. A) CVs a 100 mV s^{-1} para as diferentes superfícies na presença e ausência de L-Leu; $[L-Leu] = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; [PB] = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. B) CVs do perfil final de eletropolimerização de L-	

Leu na presença de X3OS. [L-Leu] = $5,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ ; [X3OS] = $1,0 \times 10^{-6}$; [PB] = 0,1 mol L ⁻¹ mol L ⁻¹ pH 6.....	138
Figura 39: Ilustração do mecanismo de eletropolimerização da L-leucina.	139
Figura 40: Estudo extração da molécula molde (X3OS) da matriz polimérica P-Leu. A e C) CVs para diferentes superfícies B) DPVs para a extração por etanol sensor GCE/rGO/P-Leu@MIP. D) DPVs para a extração por etanol sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP. E) DPVs para a extração eletroquímica sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP. [L-Leu] = $5,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ ; [X3OS] = $1,0 \times 10^{-6}$; [PB] = 0,1 mol L ⁻¹ mol L ⁻¹ pH 6...	140
Figura 41: Análises MEV e EDS para A) GCE. B) GCE/rGO. C) GCE/rGO/Au. D) GCE/rGO/Au@MIP. E) GCE/rGO/Au@NIP. F) Histograma de tamanho das AuNPs.	143
Figura 42: A) CVs para as etapas de formação de GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP; 100 mV s ⁻¹ ; K ₃ [Fe(CN) ₆] = $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ [KCl] = 0,5 mol L ⁻¹ . B) Diagrama de Nyquist para cada etapa na Figura A (linhas contínuas são ajustes).	144
Figura 43: CVs obtidos para 5×10^{-3} mol L ⁻¹ de K ₃ [Fe(CN) ₆]. A) GCE. B) GCE/rGO. C) GCE/rGO/Au. D) GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP. E) I _p vs. $\nu^{1/2}$, GCE (azul), GCE/rGO (preto), GCE/rGO/Au (Amarelo) e GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP (vermelho). ν = 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 e 300 mV s ⁻¹	146
Figura 44: Otimização dos parâmetros do sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP. A) Concentração de L-Leu; fixa: [X3OS] = $1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ . B) Número de ciclos de eletropolimerização. C) Tempo de extração em etanol. D) Tempo de religação em solução [X3OS] = $0,5 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹	147
Figura 45: A) Curva de calibração com DPVs na faixa de $0,5 \times 10^{-14}$ – $9,0 \times 10^{-14}$ mol L ⁻¹ para MIP e NIP. B) variação de I _p em função da concentração para MIP e NIP, (n = 3).	149
Figura 46: Estudo de seletividade de cavidade com impressão molecular de X3OS para o MIP e NIP (n = 3).	151
Figura 47: A) Curva de adição padrão obtida pela aplicação à amostra. B) Voltamogramas de pulso diferencial (DPV) obtidos para a etapa de extração, adição da amostra e adição do padrão (P1, P2 e P3).	153
Figura 48: A) Estudo de repetibilidade do sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP, n =7. B) Estudo de estabilidade intra-dia, n = 3 C) Estudo de estabilidade interdiária, n = 3.	154

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classes e principais moléculas presentes nos biopolímeros.	39
Tabela 2: Diferentes classificações existentes para os AAs.	42
Tabela 3: Principais propriedades dos aminoácidos.	45
Tabela 4: Valores extraídos da literatura para os parâmetros α e β de seletividade.	48
Tabela 5: Aminoácidos apolares em sensores MIPs.	51
Tabela 6: Resumo das comparações das interações em sistemas apolares.	57
Tabela 7: Aminoácidos polares não carregados em sensores MIPs.	64
Tabela 8: Resumo das comparações das interações em sistemas polares Neutros.	69
Tabela 9: Aminoácidos polares carregados positivamente em sensores MIPs.	74
Tabela 10: Comparações das interações em sistemas polares carregados positivamente.	80
Tabela 11: Aminoácidos polares carregados negativamente em sensores MIPs.	84
Tabela 12: Comparações das interações em sistemas polares carregados negativamente.	88
Tabela 13: Lista de reagentes envolvidos na quantificação do Mono-RHL e X3OS.	97
Tabela 14: Parâmetros e valores otimizados no desenvolvimento do filme para o sensor Mono-RHL.	101
Tabela 15: Parâmetros e valores otimizados no desenvolvimento do filme para o sensor X3OS.	102
Tabela 16: Picos e bandas encontrados no espectro FTIR.	112
Tabela 17: Valores de R_{ct} obtidos a partir do ajuste do diagrama de Nyquist ($n = 3$).	116
Tabela 18: Valores da área eletroativa para GCE, GCE/rGO e GCE/rGO@Poli(Gli) obtidos por estudo de velocidade.	117
Tabela 19: Comparação dos métodos de quantificação de RHLs.	122
Tabela 20: Valores dos parâmetros de seletividade α e β do GCE/rGO@PoliGli... ..	124
Tabela 21: Quantidades adicionadas e encontradas, desvios padrão relativos e taxas de recuperação ($n = 3$).	124
Tabela 22: Parâmetros avaliados na formação da P-Leu nas superfícies GCE e GCE/rGO.	136

Tabela 23: Valores de R_{ct} obtidos a partir do ajuste do diagrama de Nyquist para o sensor de X3OS.	145
Tabela 24: Valores da área eletroativa para GCE e GCE/rGO, GCE/rGO/Au e GCE/rGO/Au@MIP por estudo de velocidade.....	146
Tabela 25: Comparação dos métodos de quantificação de XOSs.....	150
Tabela 26: Valores dos parâmetros de seletividade α e β do GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP.	151
Tabela 27: Quantidades adicionadas e encontradas, desvios padrão relativos e taxas de recuperação ($n = 3$).	153
Tabela 28: Comparação estatística entre métodos HPLC e o sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP.	153

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3-HDA.....	ácido 3-hidroxidodecanóico
AA.	Aminoácido
Ala.	Alanina
AuNPs.	Nanopartículas de ouro
BIPs.	Bacterial Imprinted Polymers
CA.	Chronoamperometry
CAPES.	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
C _{dl}	Electric Double-Layer Capacitance
CPE.	Constant Phase Element
CuNPs.	Nanopartículas de cobre
CV.	Cyclic Voltammetry
DFT.	Density Functional Theory
Di-RHL.	Diramnilipídeo
DPR.	Desvio Padrão Relativo
DPV.	Differential Pulse Voltammetry
EDS.	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy
EIS.	Electrochemical Impedance Spectroscopy
e-MIPs.	Polímeros Molecularmente Impressão por eletropolimerização
E _{pa}	Potencial de pico anódico, Potencial de pico anódico
E _{pc}	Potencial de pico catódica, Potencial de pico catódica
FAPESP.	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FM.	Functional Monomer
FTIR.	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GC/MS.	Liquid Chromatography with Mass Spectrometry
GCE.	Glassy Carbon Electrode
GCE/Au.	Eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas de ouro
GCE/Cu.	Eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas de cobre
GCE/rGO.	Eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido
GCE/rGO/Au.....	Eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro
GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP.	eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de ouro e filme polimérico de xilotriose com polileucina
GCE/rGO@Poli(Gli).	Eletrodo de carbono vítreo com óxido de grafeno reduzido e impressão molecular de Mono-RHL com Poliglicina
Gly.	Glicina
GO.	Graphene Oxide
HPAEC/PAD.	Cromatografia de Troca Aniônica de Alto Desempenho com Detecção Amperométrica Pulsada
HPLC.	High-Performance Liquid Chromatography
Ile.	Isoleucina
I _{pa}	Corrente de pico anódica, Corrente de pico anódica
I _{pc}	Corrente de pico Catódica, Corrente de pico Catódica
IUPAC.	International Union of Pure and Applied Chemistry
L-Leu.	<i>Leucina</i>
LQ.	Limite de quantificação

L-Ser.	L-Serina
Met.	Metionina
MIPs.	Molecularly Imprinted Polymers
MOF.	Metal-Organic Framework
Mono-RHL.	Monoramnolipideo
NIP.	Molecularly Non-printed Polymer
PAA.s.	Poliaminoácidos
PB.	Phosphate Buffer
PG I.	Poliglicina I
PG II.	Poliglicina II
P-Gly.	Poliglicina
Phe.	Fenilalanina
pl.	ponto isoelétrico
Pro.	Prolina
R _{ct} .	Charge Transfer Resistance
rGO.	reduced graphene oxide
RMN.	Ressonância Magnética Nuclear
R _s .	Solution Resistance
SEM.	Scanning Electron Microscopy
SY.	Amarelo crepúsculo
Trp.	Triptofano
Val.	Valina
W.	Warburg element
X2OS.	Xilobiose
X3OS.	Xilotriose
XPS.	X-ray Photoelectron Spectroscopy
α.	fator de impressão molecular
β.	fator de seletividade
ΔI _p .	Variação de corrente de pico

SUMÁRIO

1	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	28
1.1	Fruticultura	28
1.2	Bioprocessos	31
1.3	Bioprodutos da cultura da banana, laranja e goiaba	33
1.4	Sensores eletroquímicos	34
1.5	Polímeros molecularmente impressos	36
1.6	Biopolímeros	38
1.7	Poli-aminoácidos (paas)	39
1.8	MIPs com poli-aminoácidos	43
1.9	Propriedades dos aminoácidos	44
1.10	Formação dos mips	46
1.11	Parâmetros fundamentais	47
1.11.1	Formação dos polímeros	47
1.11.2	Extração do analito	47
1.11.3	Religação do analito	48
1.12	MIPs com aminoácidos apolares	49
1.12.1	Polimerização	51
1.12.2	Interações polímero e analito	54
1.12.3	Extração	58
1.13	MIPs com aminoácidos polares não carregados	61
1.13.1	Polimerização	64
1.13.2	Interações polímero e analito	66
1.13.3	Extração	69
1.14	MIPs com aminoácidos polares carregados positivamente	72
1.14.1	Polimerização	76
1.14.2	Interações polímero e analito	78
1.14.3	Extração	81
1.14.4	Polimerização	84
1.14.5	Interações polímero e analito	86
1.14.6	Extração	89
1.15	Perspectivas na utilização de mips com poli-aminoácidos	91
2	Objetivos	95

2.1	Gerais	95
2.2	Específicos.....	95
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	97
3.1	Reagentes e equipamentos	97
3.2	Limpeza da superfície do gce.....	98
3.3	Preparo e eletrodeposição do rgo.....	99
3.4	Construção do sensor gce/rgo@poli(gli)	100
3.5	Obtenção das nanopartículas de ouro	101
3.6	Construção do sensor gce/rgo/au/p-leu@mip	101
3.7	Método de detecção	102
3.8	Construção das curvas analíticas.....	103
3.9	Amostra de ramnolipídios.....	103
3.10	Amostra de xilooligossacarídeos.....	104
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	105
4.1	Sensor eletroquímico com impressão molecular baseado em glicina eletropolimerizada sob óxido de grafeno reduzido para determinação de monoramnolipídios.	105
4.2	Comportamento eletroquímico do mono-rhl.....	107
4.3	Eletropolimerização.....	108
4.4	Caracterização microscópica do gce/rgo@poli(gli)	110
4.5	Caracterização espectroscópica	112
4.5.1	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier ..	112
4.5.2	Espectroscopia de fotoelétrons excitado por raios X.....	113
4.6	Caracterização eletroquímica	114
4.7	Otimização de parâmetros	117
4.7.1	Número de ciclos e concentração de Mono-RHL	118
4.7.2	Tempos de extração/religação e pH de religação	119
4.8	Curva analítica	121
4.9	Seletividade.....	122
4.10	Aplicação em amostras de RHLs	124
4.11	Estudo de recuperação	125
4.12	Avaliação da repetibilidade e estabilidade do GCE/rGO@Poli(Gly).....	125
4.13	Conclusão	127

4.14	Sensor eletroquímico baseado em filme de poli(leucina) com impressão molecular sob óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro para a determinação de xilotriose em amostras oriundas de resíduos agroindustriais..	128
4.15	Comportamento eletroquímico do X3OS.....	130
4.16	Eletropolimerização.....	135
4.17	Estudo de extração.....	140
4.18	Caracterização microscópica do GCE/rGO/AU@Poli(Leu)	141
4.19	Caracterização eletroquímica	143
4.20	Otimização de parâmetros	147
4.20.1	Número de ciclos e concentração de X3OS.....	147
4.20.2	Tempos de extração e religação	148
4.21	Curva analítica	148
4.22	Seletividade.....	150
4.23	Aplicação e recuperação em amostras de X3OS.....	151
4.24	Avaliação da repetibilidade e estabilidade do GCE/rGO/AU/P-Leu@MIP ..	153
4.25	Conclusão	155
5	CONCLUSÃO GERAL	156
6	REFERÊNCIAS	158

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Fruticultura

A fruticultura é um braço forte da agricultura mundial que contribui de forma relevante para economia global, gerando empregos e colaborando para consolidar a segurança alimentar da população e o desenvolvimento da economia, principalmente em países tropicais e subtropicais. Mundialmente, a fruticultura cresce de forma acelerada principalmente pelo aumento da procura por alimentos saudáveis e com o mínimo de processamento, como também, os seus derivados como sucos, polpas, extratos e ingredientes alimentares [2]. Dentre os países com maiores índices de produção, a China, Índia, Brasil, Estados Unidos e membros da União Europeia aparecem como principais produtores com destaque para frutas como banana, laranja, maçã, uva e manga (Figura 1).

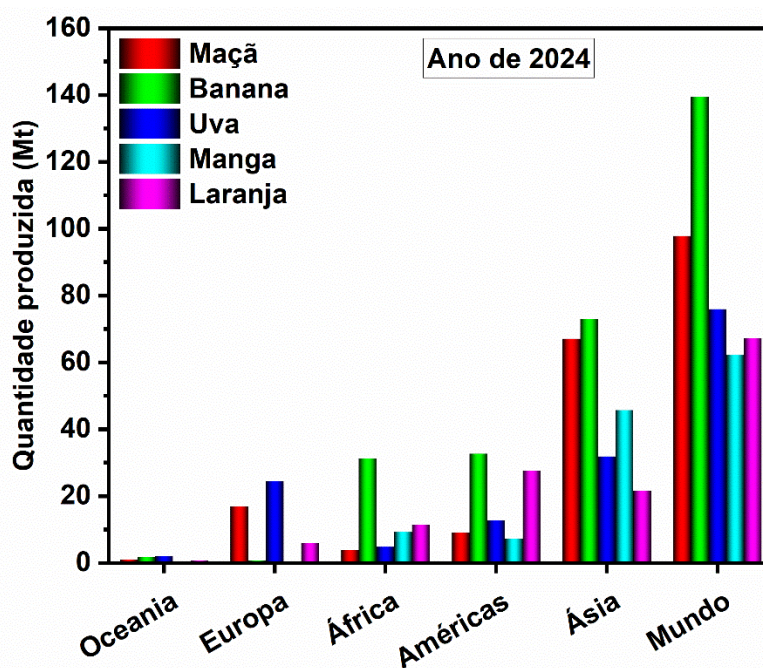


Figura 1: Produção continental e global das culturas de maçã, banana, uva, manga e laranja. **Fonte:** adaptada de FAO, (2026).

O avanço mundial da fruticultura é impulsionado por uma infinidade de inovações, entre as quais se destacam a agricultura de precisão, o manejo estratégico de pragas, os instrumentos de monitoramento e a automação de processos. Da mesma forma, muitos progressos estão sendo feitos nos setores agrícolas em torno da produção de frutas para obter sucos, polpas e ingredientes [2]. Este fenômeno está

relacionado à enorme produção de resíduos, que eventualmente constitui uma parte importante de um problema ambiental global.

Os países têm se voltado ao desenvolvimento de novas políticas ambientais que buscam novas formas de reaproveitar seus resíduos, utilizando de conceitos como a sustentabilidade e biorrefinaria, conceitos atualmente indispensáveis. Diversos estudos têm sido realizados com o propósito de reutilizar resíduos provenientes de frutas e outros materiais orgânicos para gerar uma série de compostos de interesse comercial, como os biocombustíveis [3], os biopolímeros [4], os biossurfactantes [5], as enzimas [6], os oligossacarídeos [7] e os compostos bioativos [8]. As ferramentas baseadas em conversão por microrganismos biológicos e enzimática vem se destacando pois possibilita desenvolver processos mais sustentáveis, seletivos e compatíveis com aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de materiais, representando uma tendência consolidada no cenário internacional [9–11].

Nacionalmente, a fruticultura destaca-se como uma das atividades da agricultura mais relevantes, devido à diversidade de culturas que e pelo volume de produção. O Brasil está entre os maiores produtores mundiais de frutas com destaque para culturas como banana, laranja e goiaba [12], onde a produção está distribuída por todo país, com forte impacto socioeconômico, especialmente na geração de empregos no meio rural e na agricultura familiar (Figura 2) [13].

O Brasil tem problemas na infraestrutura de produção e distribuição de seus produtos, que acabam afetando o lucro e a qualidade do meio ambiente por gerar grandes quantidades de resíduos. Esses resíduos são produzidos nas etapas de transporte, armazenamento e processamento [14,15]. Quando não tratados corretamente, podem contribuir para a geração de gases de efeito estufa e contaminar o solo e vias hídricas, gerando risco a saúde humana e aos ecossistemas, além de desperdiçar composto de grande valor que possam ser originados desses resíduos [16].

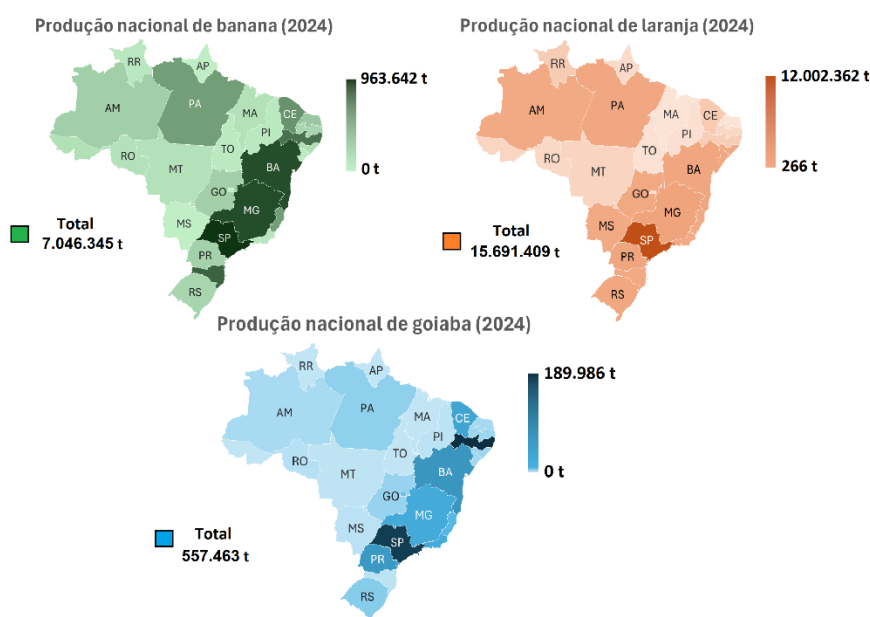


Figura 2: Levantamento da produção nacional de banana, laranja e goiaba no ano de 2024. **Fonte:** Adaptado de IBGE, (2026).

Os resíduos da banana, laranja e goiaba apresentam como composição química polissacarídeos estruturais como celulose, hemicelulose e pectina, lignina, compostos fenólicos, lipídeos e açúcares residuais, o que os tornam matérias-primas promissoras para a obtenção de bioprodutos de alto valor agregado (Figura 3) [17,18]. Para a valorização desses resíduos, destacam-se os processos biotecnológicos baseados em conversões enzimáticas e microbiológicas que possibilitam maior seletividade, condições operacionais mais brandas e menor geração de subprodutos indesejáveis. Essas abordagens estão inseridas no conceito de biorrefinarias, onde a biomassa residual é transformada em diferentes bioprodutos de alto valor agregado [19,20].



Figura 3: Principais resíduos e compostos químicos presentes nas culturas laranja, banana e goiaba. **Fonte:** elaborada pelo próprio autor.

1.2 Bioprocessos

Os bioprocessos são ferramentas potentes que utilizam sistemas biológicos para converter um resíduo (matéria-prima) em novos produtos com aplicação e importância comercial. Podem ser obtidos por microrganismos, células ou enzimas e esses processos são complexos com muitas etapas, como por exemplo, preparo do meio, cultivo de microrganismos e purificação dos produtos. Esses sistemas são influenciados pelo pH, temperatura e disponibilidade de oxigênio, que impactam diretamente o metabolismo celular e a produtividade desses processos [21].

As biomassas lignocelulósicas e os efluentes que são ricos em carbono têm sido a principal escolha desses bioprocessos com objetivo de produzir novos compostos produzidos a partir de resíduos. Isso acaba contribuindo para reduzir os problemas ambientais e ao mesmo tempo também agregam valor a resíduos, promovendo maior sustentabilidade nos processos produtivos e contribuindo para um modelo econômico sustentável que utiliza recursos biológicos para produzir alimentos, energia, materiais e serviços, a bioeconomia (Figura 4) [22,23].



Figura 4: Esquema representando o ciclo que envolve a bioeconomia. **Fonte:** adaptado de Ubando et al., 2020.

O desenvolvimento de ferramentas como engenharia metabólica e biologia sintética permite a modificação de microrganismos para otimizar rotas metabólicas e aumentar a eficiência de conversão das matérias-primas. Melhorias em biorreatores, monitoramento em tempo real e estratégias de controle do processo têm favorecido e tornado possível a escalabilidade e reprodutibilidade dos bioprocessos [24,25]. A intensificação dos processos por meio de sistemas contínuos, imobilização celular e co-cultivos microbianos, aliada a avanços em técnicas de downstream (como a separação por membranas e a extração verde), têm contribuído para tornar a produção biotecnológica mais eficiente e economicamente viável [26,27].

Os bioprodutos de alto valor agregado obtidos por conversão biológica, como os ramnolipídios (RHLs), os xilooligossacarídeos (XOSs) e os polihidroxialcanoatos (PHAs) têm ganhado destaque recentemente. Os RHLs são biossurfactantes com aplicações ambientais e industriais, os XOSs atuam como prebióticos na indústria alimentícia, e os PHAs são biopolímeros biodegradáveis considerados alternativas sustentáveis aos plásticos convencionais [28–30]. Os bioprocessos têm, portanto, papel central no desenvolvimento de soluções sustentáveis, integrando inovação tecnológica, valorização de resíduos e produção de compostos de alto valor agregado.

1.3 Bioprodutos da cultura da banana, laranja e goiaba.

Na cultura da banana, estima-se que a casca represente aproximadamente 30 - 40% do peso total da fruta, não levando em conta o pseudocaule e as folhas [31]. Esses resíduos são ricos em celulose e hemicelulose, especialmente xilana, constituindo uma matriz promissora para processos de conversão enzimática [31]. A hemicelulose pode ser explorada para a produção de XOSs, oligômeros constituídos por unidades de xilose ligadas predominantemente por ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) [32,33]. Os XOSs têm propriedades funcionais relevantes, sendo reconhecido principalmente pelo efeito prebiótico, a resistência à digestão no trato gastrointestinal superior e a capacidade de estimular seletivamente o crescimento de microrganismos benéficos, como bifidobactérias e lactobacilos, além de elevada estabilidade térmica e em ampla faixa de pH, o que amplia suas aplicações nas indústrias alimentícia e farmacêutica [29].

De forma complementar, os resíduos provenientes da citricultura, especialmente da laranja, que correspondem a aproximadamente 45–60% da massa total do fruto e incluem casca, bagaço e sementes, têm sido direcionados para a produção de PHAs [34]. Esses biopolímeros biodegradáveis e biocompatíveis são produzidos por microrganismos como material de reserva intracelular e apresentam amplo potencial de aplicação em embalagens sustentáveis, dispositivos biomédicos e materiais substitutos de plásticos convencionais [35,36]. A elevada disponibilidade de carboidratos fermentáveis, ácidos orgânicos e compostos solúveis nos resíduos de laranja torna essa biomassa particularmente atrativa como fonte alternativa de carbono em processos fermentativos, contribuindo para a redução dos custos de produção e para a valorização de subprodutos agroindustriais.

De modo semelhante, os resíduos gerados pela industrialização da goiaba, as sementes que representam cerca de 6–12% da massa total do fruto têm sido explorados como substratos para a produção de RHLs [37]. Esses compostos são biossurfactantes de origem microbiana, amplamente reconhecidos por sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e elevada eficiência superficial. A composição rica em açúcares residuais e matéria orgânica torna os resíduos de goiaba adequados para processos fermentativos conduzidos por microrganismos produtores de RHLs, como espécies do gênero *Pseudomonas*, possibilitando aplicações nas áreas ambiental, cosmética, farmacêutica e de remediação de contaminantes [37].

Assim, a valorização integrada dos resíduos de banana, laranja e goiaba para a produção de XOSs, PHAs e RHLs, evidencia o elevado potencial da fruticultura brasileira como fonte estratégica de biomassa renovável. Essa abordagem contribui para a redução dos impactos ambientais associados ao descarte inadequado, promove o desenvolvimento de bioprodutos sustentáveis e reforça a inserção do setor agroindustrial nos princípios da economia circular e da bioeconomia.

1.4 Sensores eletroquímicos

Sensores eletroquímicos são ferramentas analíticas usadas na determinação de uma ampla gama de compostos (Figura 5), caracterizados por alta sensibilidade, baixos custos relativos de análise, resposta rápida e podem ser miniaturizados em comparação com outras abordagens analíticas, como cromatografia [38,39]. Esses dispositivos convertem um processo químico, como processo redox ou interação molecular, em um sinal elétrico detectável, geralmente na forma de corrente, potencial ou impedância [40]. As principais técnicas utilizadas incluem voltametria cíclica (*Cyclic Voltammetry* - CV), voltametria de pulso diferencial (*Differential Pulse Voltammetry* - DPV), amperometria e espectroscopia de impedância eletroquímica (*Electrochemical Impedance Spectroscopy* - EIS) [40,41], sendo esta última muito útil para caracterizações interfaciais em superfícies modificadas [41].



Figura 5: Tipos, características e aplicações de sensores eletroquímicos. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Os sensores eletroquímicos têm avançado significativamente com o desenvolvimento de novos materiais funcionais devidos as suas propriedades de aumento de área superficial ativa, melhoria da transferência de carga e por permitem maior controle sobre a interface eletrodo/solução [42,43]. Materiais nanoestruturados baseados em carbono, como grafeno, óxido de grafeno reduzido (*Reduced Graphene Oxide* - rGO), fulereno e nanotubos de carbono vem ganhando destaque em sensores eletroquímicos (Figura 6) [43,44]. Além deles, as nanopartículas e óxidos metálicos, que são modificadores utilizados em sensores, vem promovendo melhorias significativas na sensibilidade e no limite de detecção desses dispositivos [42,45]. O uso de compósitos híbridos tem se mostrado uma estratégia eficaz para combinar propriedades complementares, como condutividade elétrica, estabilidade química e funcionalização superficial [44].

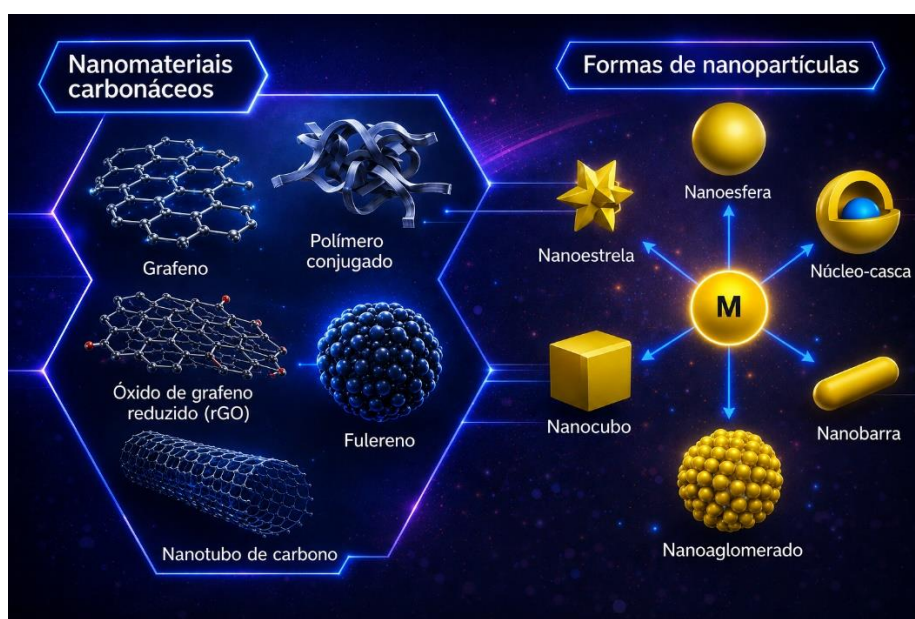


Figura 6: Nanoestruturas mais utilizados com modificadoras de sensores eletroquímicos. **Fonte:** elaborada pelo próprio autor.

Outra tendência relevante é o avanço de sensores portáteis e dispositivos point-of-care, impulsionados pela integração com sistemas microfluídicos e plataformas digitais [46,47]. A associação com tecnologias como smartphones e sistemas vestíveis (wearables) tem ampliado as possibilidades de monitoramento em tempo real, especialmente em áreas como diagnóstico clínico, segurança alimentar e monitoramento ambiental [46,48]. Paralelamente, técnicas de fabricação como

impressão 3D e screen-printing têm contribuído para a produção em larga escala de sensores descartáveis e de baixo custo [44].

Apesar desses avanços, um dos principais desafios no desenvolvimento de sensores eletroquímicos ainda reside na seletividade, especialmente em matrizes complexas, onde interferentes podem comprometer a resposta analítica. Nesse cenário, estratégias de modificação da superfície do eletrodo tornam-se fundamentais para conferir reconhecimento específico ao analito de interesse, é nesse contexto que os sensores baseados em polímeros molecularmente impressos ganham destaque [49].

1.5 Polímeros molecularmente impressos

Os polímeros molecularmente impressos (*Molecularly Imprinted Polymers* - MIPs), constituem uma classe de materiais sintéticos projetados para apresentar sítios de reconhecimento molecular altamente específicos [50,51]. Esses materiais são obtidos por meio de um processo de polimerização realizado na presença de uma molécula molde (template), que interage com monômeros funcionais antes da formação da rede polimérica [52]. Após a etapa de polimerização e posterior remoção do template, permanecem na matriz polimérica cavidades complementares em forma, tamanho e distribuição de grupos funcionais à molécula alvo (Figura 7). Essas cavidades funcionam como sítios seletivos de reconhecimento, permitindo que o material apresente afinidade preferencial por determinadas moléculas [52,53].

Devido a essa característica os MIPs são descritos como materiais que imitam os sistemas biológicos de reconhecimentos parecidos com anticorpos e enzimas [49,54]. Os MIPs são diferentes desses sistemas biológicos pois apresentam elevada estabilidade química, térmica e mecânica, resistência a variações de pH e à presença de solventes orgânicos [49,55]. Os MIPs são atrativos para aplicações em sensores químicos por essas propriedades, sendo empregados em extração em fase sólida, separações cromatográficas e liberação controlada de fármacos [55,56]. Outra característica relevante é a possibilidade de aumentar a seletividade, afinidade e propriedades físico-químicas do material por meio da escolha adequada do monômero funcional, do agente reticulante e das condições de polimerização [54].

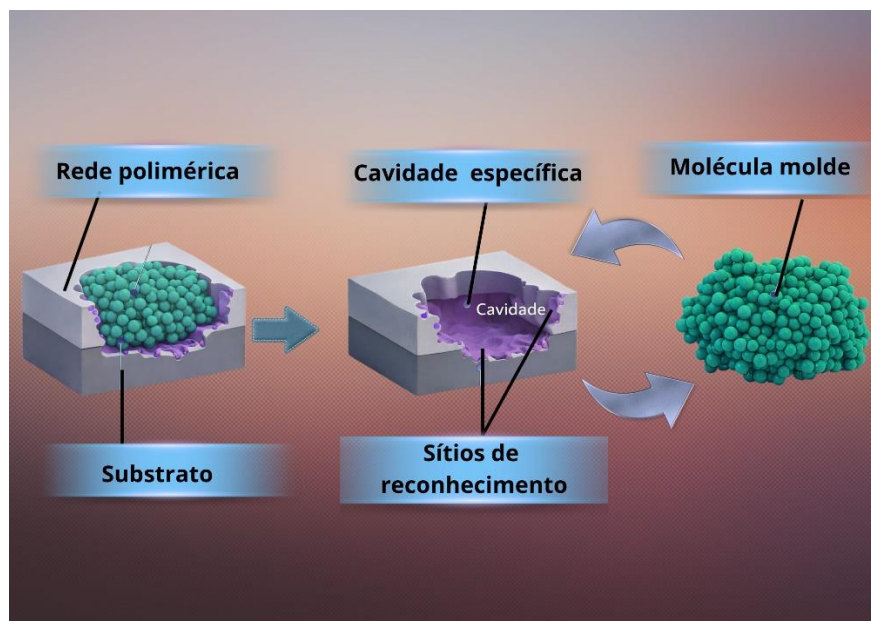


Figura 7: Representação de um sistema MIP voltado para plataformas eletroquímicas.
Fonte: Adaptada de Dmitriy Gritsok, et al., (2025).

Em relação a utilização de polímeros, destacam-se inúmeros trabalhos utilizando polianilina, polipirrol, ácido metacrílico, entre outros monômeros sintéticos pelas suas características de formação de filme e condutividade [42,43]. Uma nova classe de polímeros vem sendo estudada, os poliaminoácidos (PAAs) que são formado a partir de um monômero funcional (*Functional Monomer* – FM) que seja um aminoácido (AA). Esses polímeros apresentam propriedades interessantes para a determinação analítica, como biocompatibilidade, estabilidade eletroquímica, propriedades eletro-ópticas e grupos funcionais laterais [44].

Na determinação de diversos analitos, os MIPs têm sido utilizados devido às suas características que contribuem para a quantificação em baixos níveis e com alta seletividade. Dentro dessa classe, os polímeros molecularmente impressos por eletropolimerização (e-MIPs) têm se destacado pela praticidade de execução e pelas propriedades de controle da espessura e homogeneidade do filme polimérico formado [50,51,57]. Os e-MIPs têm sido amplamente utilizados recentemente em diversos tipos de sensores, sendo esse tipo de eletrodo construído pela eletropolimerização de um FM juntamente com o analito em estudo na superfície de um eletrodo, extraindo-se posteriormente o analito e deixando sua cavidade impressa [52].

1.6 Biopolímeros

Atualmente, a sustentabilidade e a preservação ambiental assumem papel central no avanço da ciência, devendo ser consideradas como princípios orientadores na busca por conhecimento e no desenvolvimento de novas tecnologias essenciais ao progresso humano. No contexto do desenvolvimento de novas plataformas eletroquímicas voltadas à criação de metodologias analíticas, é amplamente consolidado o uso de moléculas passíveis de polimerização para a modificação de superfícies eletródicas. Nesse cenário, e alinhado aos princípios da sustentabilidade e da bioeconomia, a substituição de monômeros sintéticos por compostos naturais ou renováveis, como os biopolímeros, tem ganhado destaque na área de desenvolvimento de sensores eletroquímicos ambientalmente mais favoráveis [58].

Os biopolímeros são macromoléculas que podem ser obtidas a partir de fontes renováveis, incluindo polissacarídeos, poliésteres microbianos, proteínas, poliaminoácidos, nucleotídeos e ácidos nucleicos (Tabela 1) [59]. Esses materiais têm despertado crescente interesse devido à sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e versatilidade química. Dentro dessas classes, diversas moléculas vêm sendo amplamente exploradas na construção de sensores baseados em impressão molecular. Nesse contexto, o trabalho de revisão de Cowen et al. (2025), destaca cerca de 20 estudos voltados ao desenvolvimento de sensores baseados em MIPs, evidenciando a relevância desses biopolímeros nessa área [59].

Dentre as diferentes classes de biopolímeros, a quitosana destaca-se como o material mais amplamente empregado na construção de sensores baseados em MIPs, sendo aplicada na detecção de uma ampla variedade de analitos, desde herbicidas [60] até potenciais fármacos [61]. Além disso, sensores baseados em impressão molecular também têm sido desenvolvidos para a detecção de microrganismos, construindo dispositivos conhecidos como BIPs (Bacterial Imprinted Polymers), como demonstrado no trabalho de Hassan et al. (2026), que reporta a detecção de *Brucella abortus* utilizando polidopamina, um biopolímero bioinspirado [62]. Por outro lado, os PAAs, também denominados polipeptídeos, destacam-se por apresentarem uma grande diversidade de grupos funcionais, capacidade de modulação de carga em função do pH e habilidade de formar estruturas secundárias e terciárias organizadas [63]. Essas características conferem elevada capacidade de interação molecular,

tornando esses materiais particularmente promissores para aplicações em biomateriais [64], sensores químicos [65] e sistemas responsivos [66].

Tabela 1: Classes e principais moléculas presentes nos biopolímeros.

Classes	Principais moléculas
Polissacarídeos	Glucanos e Celulose (Amido, Dextrano, Dextrina, Celulose, Ciclodextrinas); Quitosana; Alginato; Agarose; Glucomanano; Tragacanto; Goma tara.
Poliésteres microbianos	Poli(3-hidroxiбутирато); Polihidroxi valerato; Poli(3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato); Polihidroxi hexanoato
Bioinspirados	Polidopamina; Ácido Tânico
Proteínas	Albumina; Gelatina; Seda; Zefina; Queratina
Nucleotídeos e ácidos nucleicos	Oligonucleotídeos; Aptâmeros
Poliaminoácidos	α -aminoácidos protéicos

Fonte: Adaptado de Cowen, et al., (2025).

1.7 Poliaminoácidos (PAAs)

Os PAAs são compostos formados pela repetição de unidades de aminoácidos conectadas por ligações peptídicas, constituindo uma importante classe de biopolímeros. Esses materiais podem ser obtidos por síntese química, processos biotecnológicos ou por meio de síntese eletroquímica, e apresentam propriedades estruturais e funcionais semelhantes às das proteínas naturais [67,68]. De modo geral, sua formação ocorre por meio da reação de condensação entre o grupo amino ($-\text{NH}_2$) de um aminoácido e o grupo carboxila ($-\text{COOH}$) de outro, liberando água no processo (Figura 8), resultando na formação de uma ligação amida conhecida como ligação peptídica [69]. Essa estrutura polimérica confere aos PAAs características como biodegradabilidade, biocompatibilidade e elevada diversidade funcional, uma vez que suas propriedades dependem diretamente da natureza das cadeias laterais dos aminoácidos que compõem a cadeia polimérica [69].

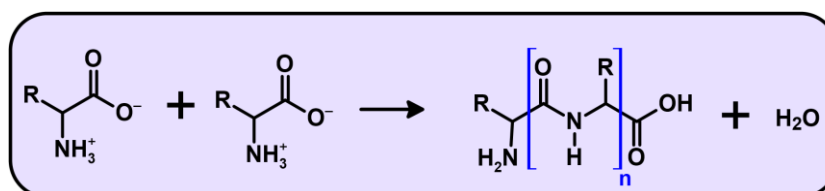


Figura 8: Reação peptídica, formação de PAAs. **Fonte:** elaborada pelo próprio autor.

Os AAs que compõem proteínas e poliaminoácidos biológicos correspondem, em sua maioria, aos 20 α -aminoácidos protéicos. Essas moléculas apresentam uma

estrutura geral comum composta por um carbono central, denominado carbono α , ligado a quatro substituintes distintos: um grupo amino ($-\text{NH}_2$), um grupo carboxila ($-\text{COOH}$), um átomo de hidrogênio e uma cadeia lateral variável denominado grupo R (Figura 9) [70]. Essa cadeia lateral é responsável pelas diferenças estruturais, químicas e físico-químicas entre os aminoácidos, influenciando propriedades como polaridade, hidrofobicidade, carga elétrica e capacidade de estabelecer interações intermoleculares. Em solução aquosa, os aminoácidos geralmente se encontram na forma zwitteriônica, na qual o grupo amino está protonado ($-\text{NH}_3^+$) e o grupo carboxila desprotonado ($-\text{COO}^-$), condição que contribui para sua estabilidade estrutural e comportamento ácido-base [70].

Os AAs podem ser classificados de diferentes maneiras dependendo do critério adotado (Tabela 2). Uma das classificações mais utilizadas baseia-se na estrutura química da cadeia lateral, que inclui aminoácidos alifáticos, aromáticos, contendo enxofre, hidroxilados, amidas, ácidos e básicos [70]. Outra forma de classificação considera o destino metabólico, dividindo-os em aminoácidos glicogênicos, cetogênicos ou mistos. Do ponto de vista nutricional, podem ser classificados como essenciais, quando não são sintetizados pelo organismo humano e devem ser obtidos pela alimentação, ou não essenciais, quando podem ser produzidos metabolicamente [2]. Uma classificação amplamente empregada em estudos de bioquímica e ciência de materiais baseia-se na polaridade da cadeia lateral, distinguindo aminoácidos apolares, polares não carregados, carregados negativamente (ácidos) e carregados positivamente (básicos) [70]. Essa diversidade estrutural e funcional é fundamental para determinar as propriedades químicas e físico-químicas dos poliaminoácidos e de outros sistemas biomoleculares derivados.

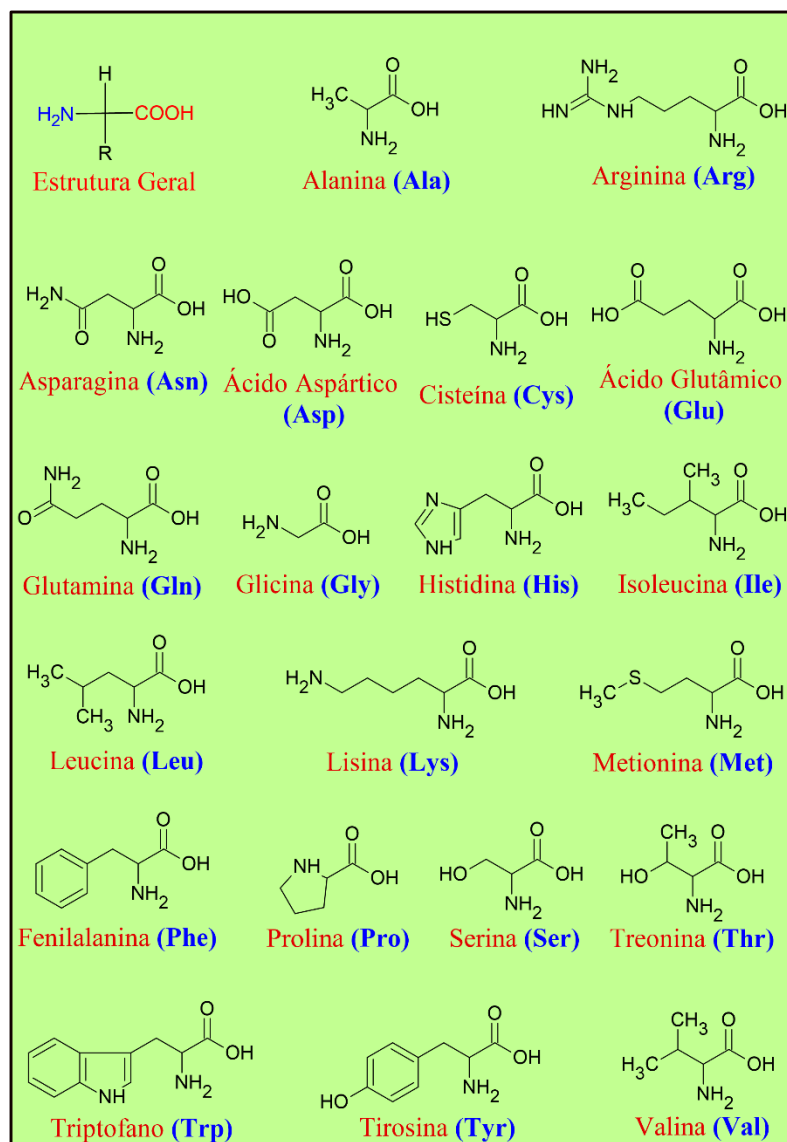


Figura 9: Estrutura geral e os 20 AAs formadores de proteína. **Fonte:** elaborada pelo próprio autor.

Todas essas propriedades dos PAAs os tornam excelentes materiais com diversas aplicabilidades, dentre elas em engenharia de tecidos, carreadores de medicamentos, revestimentos inteligentes, sensores eletroquímicos e sistemas MIPs baseados em matriz biopolimérica. De todas essas, destaca-se a aplicação em sistemas MIPs, na qual a utilização dos aminoácidos como monômeros funcionais vem crescendo recentemente e demonstra resultados consolidados na literatura com uma ampla margem de novas possibilidades de uso, uma vez que ainda há uma variedade de aminoácidos a serem utilizados dentro desse tipo de plataforma eletroquímica (Figura 10).

Tabela 2: Diferentes classificações existentes para os AAs.

Aminoácidos	Classificações			
	Estrutura química (Grupo R)	Destino Metabólico	Nutricional	Polaridade (Grupo R)
Alanina	Alifático	Glicogênico	Não essencial	Apolar
Arginina	Básico	Glicogênico	Não essencial	Polar/Positivo
Asparagina	Amida	Glicogênico	Não essencial	Polar/Neutro
Ácido aspártico	Ácido	Glicogênico	Não essencial	Polar/Negativo
Cisteína	Com Enxofre	Glicogênico	Não essencial	Polar/Neutro
Ácido Glutâmico	Ácido	Glicogênico	Não essencial	Polar/Negativo
Glutamina	Amida	Glicogênico	Não essencial	Polar/Neutro
Glicina	Alifático	Glicogênico	Não essencial	Apolar
Histidina	Básico	Glicogênico	Essencial	Polar/Positivo
Isoleucina	Alifático	Misto	Essencial	Apolar
Leucina	Alifático	Cetogênico	Não essencial	Apolar
Lisina	Básico	Cetogênico	Essencial	Polar/Positivo
Metionina	Com Enxofre	Glicogênico	Essencial	Apolar
Fenilalanina	Aromático	Misto	Essencial	Apolar
Prolina	Alifático	Glicogênico	Não essencial	Polar/Neutro
Serina	Hidroxilado	Glicogênico	Não essencial	Polar/Neutro
Treonina	Hidroxilado	Misto	Essencial	Polar/Neutro
Triptofano	Aromático	Misto	Essencial	Apolar
Tirosina	Aromático/ Hidroxilado	Misto	Não essencial	Apolar
Valina	Alifático	Glicogênico	Essencial	Apolar

Fonte: elaborada pelo próprio autor.

De acordo com o levantamento apresentado na Figura 10, feito entre os anos 2000 e 2026 na base de dados da Science Direct utilizando os termos “electrochemical sensor” ou “electrochemical biosensor” e “polyamino acid” ou “poly(amino acid)” e “modified electrode” ou “electropolymerization” ou “electrode modification”, listando apenas artigos de pesquisa e artigos de revisão na data de 19 de maio de 2026, podemos verificar a utilização de PAAs em dispositivos evidenciando que esses compostos têm sido amplamente utilizados no desenvolvimento de diferentes tipos de sensores eletroquímicos (Figura 10A) com um total de 5482 resultados. Entretanto, buscando de forma mais específica e manual nas bases de dados Science Direct e Web of Science, em todos os anos, restringindo especificamente ao emprego de PAAs em sensores baseados em MIPs, o número de publicações é significativamente menor, totalizando apenas 26 trabalhos, conforme mostrado na Figura 10B.

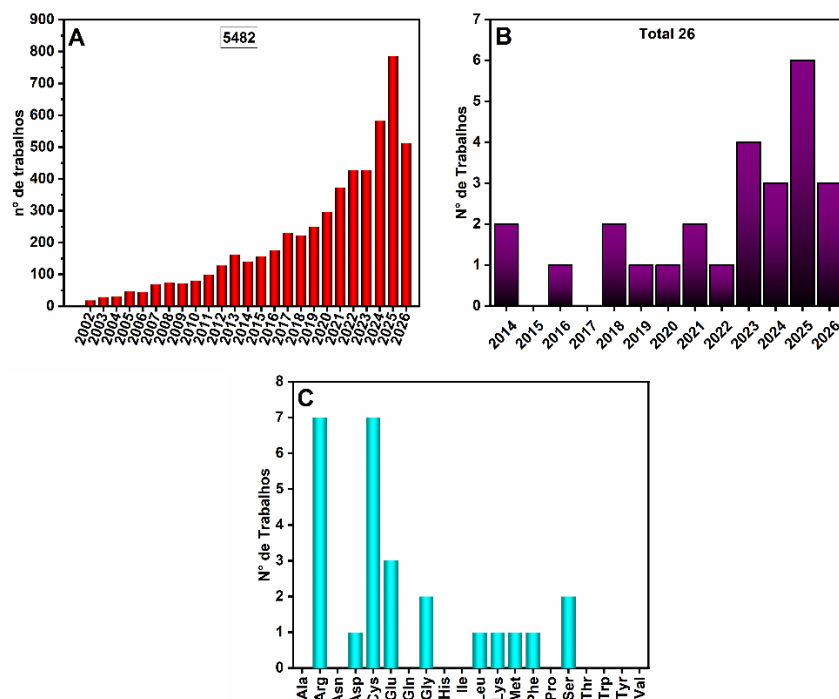


Figura 10: Histograma de avaliação de sensores com uso de filmes de PAAs (A), PAAs aplicados em sensores MIPs (B), e levantamentos dos AAs que foram utilizados em sensores MIPs (C). **Fonte:** elaborada pelo próprio autor.

Além disso, a análise desses estudos revela que nem todos os aminoácidos foram explorados como monômeros ou unidades poliméricas em sensores MIP, evidenciando lacunas importantes na literatura. Como ilustrado na Figura 10C, ainda existem aminoácidos que não foram investigados nesse contexto, indicando oportunidades relevantes para o desenvolvimento de novos materiais e estratégias de impressão molecular.

1.8 MIPS com poliaminoácidos

No desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em MIPs, os monômeros funcionais desempenham papel fundamental na formação dos sítios de reconhecimento, sendo eles responsáveis pelas interações iniciais com o analito durante o processo de impressão molecular. Normalmente, monômeros sintéticos como ácido metacrílico, anilina, pirrol e outros compostos vinílicos têm sido amplamente utilizados na preparação desses materiais [71,72]. Porém, buscando alcançar os princípios da química verde, observa-se um crescente interesse na

utilização de monômeros derivados de fontes naturais como os biopolímeros, inclusive poliaminoácidos (PAAs).

Neste sentido, esta revisão discute as características e propriedades dos aminoácidos, com base na classificação segundo a polaridade do grupo R, quando aplicados como monômeros na construção de sensores do tipo MIP. O objetivo é identificar possíveis padrões e comportamentos que contribuam para esclarecer aspectos importantes, como a escolha mais adequada de um determinado poliaminoácido para o reconhecimento de analitos específicos, bem como compreender de que forma essa diversidade de moléculas pode influenciar o desempenho analítico dos sensores, tomando como base, pontos como técnicas de polimerização, pHs envolvidos no processo, materiais modificadores, Relação monômero/analito e tipos extração.

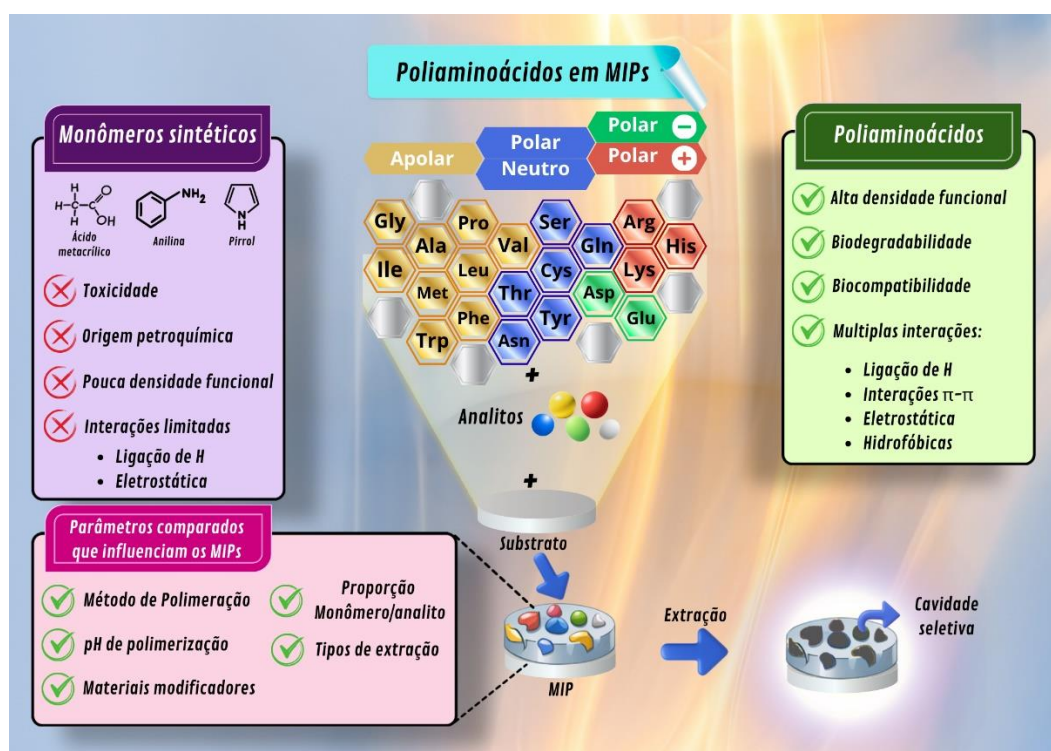


Gráfico 1: Aminoácidos como blocos de construção para sensores molecularmente impressos de alta performance. **Fonte:** elaborada pelo próprio autor.

1.9 Propriedades dos aminoácidos

O ponto isoelétrico (pI) é um parâmetro-chave, pois define a carga elétrica do aminoácido em função do pH, influenciando a adsorção no eletrodo, as interações

eletrostáticas com o analito e a orientação durante a polimerização [73]. Já o índice de hidropatia, proposto por Kyte e Doolittle, descreve o caráter hidrofóbico ou hidrofílico das cadeias laterais, sendo determinante para a afinidade com o analito, formação de microambientes e balanço entre interações hidrofóbicas e Ligações de hidrogênio [74].

Tabela 3: Principais propriedades dos aminoácidos.

Aminoácido	Massa molecular (M)	Valores de pKa			pI	Índice de hidropatia
		pK ₁ (-COOH)	pK ₂ (-NH ₃ ⁺)	pK _r (grupo R)		
Apolares						
Glicina	75	3,34	9,60		5,97	-0,4
Alanina	89	2,34	9,69		6,01	1,8
Prolina	115	1,99	10,96		6,48	-1,6
Valina	117	2,32	9,62		5,97	4,2
Leucina	131	2,36	9,60		5,98	3,8
Isoleucina	131	2,36	9,68		6,02	4,5
Metionina	149	2,28	9,21		5,74	1,9
Triptofano	204	2,38	9,39		5,89	-0,9
Fenilalanina	165	1,83	9,13		5,48	2,8
Polares Neutros						
Serina	75	3,34	9,60		5,97	-0,4
Treonina	89	2,34	9,69		6,01	1,8
Cisteína	115	1,99	10,96		6,48	-1,6
Asparagina	117	2,32	9,62		5,97	4,2
Glutamina	131	2,36	9,60		5,98	3,8
Tirosina	181	2,20	9,11	10,7	5,66	-1,3
Polares carregados positivamente						
Lisina	146	2,18	8,95	10,53	9,74	-3,9
Histidina	155	1,82	9,17	6,00	7,59	-3,2
Arginina	174	2,17	9,04	12,48	10,76	-4,5
Polares carregados positivamente						
Aspartato	133	1,88	9,60	3,65	2,77	-3,5
Glutamato	147	2,19	9,67	4,25	3,22	-3,5

Fonte: Adaptada de Lehninger (2001).

Em geral, aminoácidos hidrofóbicos favorecem analitos apolares ou aromáticos, enquanto os hidrofílicos interagem melhor com espécies polares ou carregadas, havendo ainda maior compatibilidade entre moléculas com hidropatia semelhante (Tabela 3) [75].

Assim, a combinação entre *pI* e índice de hidropatia constitui uma base fundamental para o design racional de MIPs, pois controla tanto o tipo de interação predominante quanto a organização estrutural do polímero, sendo o pH um fator decisivo para modular simultaneamente a carga do monômero, a ionização do analito e a eficiência da formação das cavidades impressas.

1.10 Formação dos MIPs

Os MIPs podem ser sintetizados por diferentes métodos de polimerização, que influenciam diretamente suas propriedades estruturais e desempenho analítico. A polimerização em massa é simples, porém gera partículas heterogêneas [54–56,76], enquanto métodos como precipitação e suspensão permitem melhor controle de tamanho e maior área superficial [56,76]. Técnicas como emulsão, impressão em superfície e sol–gel são utilizadas para otimizar a acessibilidade dos sítios de reconhecimento e a estabilidade dos materiais [56,76,77]. A eletropolimerização, que possibilita a formação controlada de filmes diretamente sobre eletrodos, oferece alta reprodutibilidade, melhor transferência de carga e elevada sensibilidade, sendo especialmente promissora para sensores eletroquímicos [77].

A eletropolimerização de aminoácidos tem se destacado como uma estratégia eficiente para a obtenção de MIPs (e-MIPs), especialmente em sensores eletroquímicos, devido à formação direta de filmes finos sobre o eletrodo com controle de espessura, morfologia e sítios ativos. Esse método permite a síntese *in situ* na presença do analito molde, favorecendo cavidades organizadas e acessíveis, além de ser rápido, limpo e versátil [77]. Nesse processo, a oxidação eletroquímica do monômero gera espécies reativas que formam homopolímeros desordenados, cuja estrutura depende das condições experimentais (potencial, ciclos, pH e eletrólito), sendo essa “desordem controlada” essencial para a criação de microambientes capazes de interagir com o analito por múltiplas forças não-covalentes [77].

1.11 Parâmetros fundamentais

1.11.1 Formação dos polímeros

A relação química entre o monômero e o analito é outro ponto que influencia na performance do sensor, sendo a etapa de pré-organização dos arranjos estruturais que formarão as cavidades específicas. Essa variação é importante principalmente devido aos tipos de interações que podem ocorrer para a formação da matriz polimérica como por exemplo: ligação de hidrogênio, eletrostáticas, hidrofóbicas e interações $\pi - \pi$, sendo a concentração um ponto primordial no resultado da impressão molecular. As análises pela Teoria do Funcional da Densidade (*Density Functional Theory* – DFT) são de grande ajuda para a compreensão das interações mais favoráveis energeticamente entre os compostos, sendo, portanto, muito útil na etapa de escolha do monômero e pré-organização da matriz polimérica.

1.11.2 Extração do analito

A etapa de extração, assim como a formação do filme, é essencial e determinante na construção de plataformas baseadas em MIPs, sendo fundamental para a remoção eficiente do analito molde e para a preservação das cavidades específicas formadas [54]. Essa etapa está diretamente relacionada à seletividade do sensor e às suas figuras de mérito analíticas [78]. Uma extração incompleta do analito compromete a seletividade e a capacidade de religação, uma vez que sítios de reconhecimento permanecem ocupados. Condições de extração agressivas podem levar ao colapso do filme, à reorganização da rede polimérica e à perda da orientação dos grupos funcionais, o que resulta em menor especificidade da cavidade de reconhecimento [79]. Além disso, a etapa de extração exerce influência direta sobre a cinética de extração e religação do analito no sensor, pois afeta a acessibilidade dos sítios de reconhecimento e a difusão do analito na matriz polimérica. Como consequência, processos de extração inadequados podem resultar em aumento do tempo de resposta e redução da eficiência de religação [56].

As principais estratégias de extração em MIPs incluem o uso de solventes puros, solventes modificados (por exemplo, com ajuste de pH ou adição de agentes disruptores), ultrassom, métodos eletroquímicos e variações de pH [80]. A escolha do método deve ser compatível com o tipo de interação predominante entre monômero e

analito, especialmente em sistemas baseados em poliaminoácidos, nos quais múltiplos mecanismos de interação coexistem.

Para avaliar a eficiência de um processo de extração, além de levar em conta o tipo de interação da matriz polimérica e o analito, alguns parâmetros como tempo de extração, estabilidade (intradia e interdia) e os coeficientes α e β de seletividade são empregados como critérios de avaliação [81]. O Coeficiente α é chamado de fator de impressão, onde há uma relação entre o MIP e o controle NIP, enquanto o coeficiente β é chamado de fator de seletividade e avalia uma relação entre o analito e seus interferentes (equações 6 e 7) [82]. Na Tabela 4, é mostrado os valores retirados da literatura para cada parâmetro mencionado [56,83,84].

Tabela 4: Valores extraídos da literatura para os parâmetros α e β de seletividade.

Coeficiente α		Coeficiente β	
Valores	(Fator de impressão)	Valores	(Seletividade)
	Relação		Relação
	MIP vs. NIP		Analito vs. interferente
$\alpha \approx 1$	Sem efeito de impressão	$\beta \approx 1$	Sem seletividade
$1 < \alpha < 2$	Efeito de impressão baixo a moderado	$1 < \beta < 2$	Seletividade baixa
$2 \leq \alpha \leq 5$	Bom desempenho (impressão eficiente)	$2 \leq \beta \leq 5$	Boa seletividade
$\alpha > 5$	Excelente, alta capacidade de reconhecimento	$\beta > 5$	Alta seletividade

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

1.11.3 Religação do analito

A religação do analito em MIPs é um processo fundamental que reflete a eficiência dos sítios de reconhecimento formados durante a síntese. Após a remoção do analito cavidades específicas permanecem na matriz polimérica permitindo o reconhecimento seletivo do analito alvo. Esse processo é geralmente governado por interações não-covalentes, como Ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, forças de van der Waals e interações π - π , sendo altamente dependente do meio, pH e força iônica [55,56].

A cinética de religação é influenciada pela morfologia do polímero e pela acessibilidade dos sítios ativos. MIPs com sítios superficiais ou estruturas porosas tendem a apresentar tempos de resposta mais rápidos, enquanto materiais obtidos por polimerização em massa podem apresentar limitações difusionais devido à localização dos sítios no interior da matriz [56,76]. Dessa forma, estratégias como impressão em superfície e controle da porosidade têm sido amplamente empregadas para melhorar a eficiência de religação e a capacidade de adsorção [76,77].

A seletividade durante a religação é um dos principais diferenciais dos MIPs em relação a materiais não-impressos, sendo frequentemente avaliada por estudos de adsorção competitiva. A afinidade preferencial pelo analito molde ocorre devido à complementaridade estrutural e à disposição espacial dos grupos funcionais nos sítios impressos, permitindo discriminar moléculas estruturalmente semelhantes [54,55]. Esse comportamento é essencial para aplicações em sensores, separações e extrações seletivas.

Em aplicações eletroquímicas e fotoeletroquímicas, a etapa de religação está diretamente associada à resposta analítica do sensor, uma vez que a interação do analito com os sítios impressos modula propriedades como corrente, potencial ou impedância. A eficiência desse processo impacta diretamente parâmetros como sensibilidade, limite de detecção e tempo de resposta, sendo a otimização da religação um fator chave no desenvolvimento de dispositivos analíticos baseados em MIPs [77].

1.12 MIPS com aminoácidos apolares

Os AA apolares são aqueles que não apresentam polaridade significativa no seu grupamento R. Dentro desta classe estão a glicina (Gly), alanina (Ala), leucina (Leu), isoleucina (Ile), valina (Val), prolina (Pro), metionina (Met), fenilalanina (Phe) e triptofano (Trp) que tem algumas características e propriedades similares entre elas (Tabela 3). Todos são alifáticos (exceto a Phe e Trp), constituídos majoritariamente por hidrocarbonetos (com exceção da Met com um grupo metiltio e o Trp com grupo NH) e são considerados hidrofóbicos de acordo com os valores positivos no índice de hidropatia, tendem ocorrer no interior das proteínas, estabilizando a estrutura proteica pelas interações hidrofóbicas. Por não possuir grupos funcionais com diferença de

polaridade nas ramificações R, seus valores de ponto isoelétrico (pI) são muito próximos ficando entorno de 6,0, tendo apenas dois valores pK_a dos grupos amino e carboxílico. Desta classe, apenas 5 trabalhos foram relatados sendo 2 utilizando a P-Gli, um para a P-Phe, um usando P-Leu e o outro para a P-Met em sensores eletroquímicos do tipo MIP (Tabela 5).

Em um artigo de 2025, um sensor eletroquímico para a quantificação de um biosurfactante (Mono-RHL) foi descrito utilizando uma plataforma de GCE com camada de rGO sobre a qual foi eletropolimerizado um MIP com a P-Gli. O limite de detecção obtido foi de $2,1 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$, aplicado em uma amostra produzida em um sistema bioeletroquímico [85]. Outro ponto importante deste trabalho diz respeito a seletividade obtida, conseguindo discriminar o Mono-RHL do segundo principal composto produzido, o Di-RHL. Em outro trabalho, utilizando a glicina eletropolimerizada, um sensor eletroquímico a base de grafite de lápis foi desenvolvido para quantificar a amarelo crepúsculo, um corante sintético utilizado na indústria alimentícia, foi descrito obtendo um limite de detecção de $0,75 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e aplicado em amostra de extrato de tomate. Além disso, o sensor se mostrou seletivo para diversos compostos como glicose, ácido benzoico, tartrazina e amarelo limão [86].

Para a fenilalanina, um eletrodo de carbono serigrafado foi escolhido como substrato recebendo diretamente a eletropolimerização da L-Phe para a quantificação de paracetamol, um fármaco muito utilizado para a retirada de dor. O sensor obteve um limite de detecção de $30 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ sendo aplicada em amostras de água fortificadas, o dispositivo foi seletivo diferenciando diversos outros medicamentos e compostos [87].

Para a Leucina, um eletrodo a base de GCE modificado com rGO e AuNPs foi utilizado como substrato para a matriz polimérica de P-Leu (seção 3.6). A faixa linear de trabalho foi de $0,5 \times 10^{-14}$ a $4,0 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$ obtendo um limite de detecção de $1,4 \times 10^{-15} \text{ mol L}^{-1}$. Além disso, o sensor se mostrou seletivo para xilotriose (X3OS) frente os principais interferentes presentes em amostras de XOSs, onde o mesmo foi aplicado. Por fim, um sensor a base de GCE revestido com um material metalorgânico (*Metal-Organic Framework* – MOF) de Ni com ligante biológico de asparagina, foi utilizado como substrato para a eletropolimerização de P-Met para quantificar o

diclofenaco. O limite de detecção do sensor foi de $0,17 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ sendo aplicado em amostra de soro sanguíneo humano e comprimidos, demonstrando uma excelente performance analítica. Em relação a seletividade, o estudo mostrou que concentrações mais elevadas dos interferentes afetam a performance analítica do sensor [88].

Tabela 5: Aminoácidos apolares em sensores MIPs.

AA	Eletrodo	Analito	LD (mol L^{-1})	Intervalo (mol L^{-1})	Amostra	Ref.
Gli	GCE/rGO@Poly(Gly)	Mono-RHL	$2,1 \times 10^{-14}$	$5,0 \times 10^{-14}$ $1,0 \times 10^{-12}$	RHLs	[85]
	MIP-Gly/PGE	Amarelo crepúsculo	$0,75 \times 10^{-6}$	2×10^{-6} $1,0 \times 10^{-4}$	Molho de tomate	[86]
Phe	SPCE/MIP	Paracetamol	$30,0 \times 10^{-9}$	$0,2 \times 10^{-6}$ $1,3 \times 10^{-4}$	Água Fortificada	[87]
Met	Ni-Bio-MOF/MIP-PL-Met	Diclofenaco	$0,17 \times 10^{-12}$	$1,0 \times 10^{-12}$ $5,0 \times 10^{-10}$	Soro sanguíneo humano Comprimidos	[88]
Leu	GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP	Xilotriose	$1,4 \times 10^{-15}$	$0,5 \times 10^{-14}$ $4,0 \times 10^{-14}$	Xilooligossacarídeos	Item 4.22

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

1.12.1 Polimerização

Todos os MIPs dessa classe foram obtidos por eletropolimerização como estratégia para a formação de cavidades específicas, sendo a voltametria cíclica (CV) a técnica empregada nesse processo. No que se refere à eletropolimerização da glicina, o sensor desenvolvido para monoramnolípideo (Mono-RHL) apresentou como condição experimental a aplicação de 9 ciclos de varredura, nos quais foi observada a diminuição da corrente com o aumento do número de ciclos, indicando a formação progressiva de um filme mais espesso e menos condutor. Em contrapartida, para o eletrodo destinado à detecção de amarelo crepúsculo (SY), foram aplicados 5 ciclos, com um discreto aumento de corrente ao longo das varreduras, sugerindo diferenças na cinética de crescimento e na morfologia do filme polimérico.

Outro aspecto comum entre os trabalhos foi a escolha de janelas de potencial relativamente amplas, variando de $-0,8$ a $1,9 \text{ V}$ para o sistema GCE/rGO@Poly(Gly) e de $-0,8$ a $1,5 \text{ V}$ para o MIP-Gly/PGE, mantendo-se a velocidade de varredura em 100 mV s^{-1} . Esses parâmetros indicam condições suficientemente energéticas para

promover a oxidação da glicina e a subsequente formação do filme polimérico sobre a superfície do eletrodo.

Sabe-se que diferentes estruturas de poliglicina (P-Gly) podem ser obtidas, sendo amplamente consolidadas na literatura as formas poliglicina I (PG I) e poliglicina II (PG II), as quais diferem quanto às propriedades físico-químicas e à organização de seus grupos funcionais livres. Essas estruturas podem ser obtidas por vias eletroquímicas, sendo fortemente dependentes das condições experimentais, como pH do meio reacional, faixa de potencial aplicada, velocidade de varredura, temperatura, natureza dos eletrólitos/íons e características da superfície do eletrodo, incluindo sua rugosidade [89].

Embora um dos trabalhos apresente um mecanismo proposto para a eletropolimerização da glicina, nenhum deles realiza a caracterização estrutural do filme formado a ponto de distinguir entre PG I e PG II (Figura 11). Considerando que os processos foram conduzidos em pH 7,0 e 5,0, com superfícies modificadas (como rGO) e sob condições eletroquímicas semelhantes (mesma velocidade de varredura e eletrólito), a literatura sugere que tais condições favorecem a formação da poliglicina II. Essa conformação é caracterizada por uma organização mais tridimensional, com interações de Ligações de hidrogênio ocorrendo entre múltiplas cadeias vizinhas (podendo envolver até seis cadeias ao redor), resultando em uma estrutura mais aberta e, em certa medida, análoga à organização observada em estruturas do tipo poliprolina II e colágeno [89,90].

Para o sensor de P-Phe, as condições experimentais de eletropolimerização foram estabelecidas por voltametria cíclica (CV), na faixa de potencial de -1,0 a 1,5 V, com 10 ciclos [87]. Observou-se um aumento da corrente a cada novo ciclo, o que indica a formação de um filme com características condutoras. Esse ganho de corrente pode estar relacionado à presença de elétrons π deslocalizados nos anéis aromáticos da estrutura da P-Phe. No entanto, somente esses anéis não são suficientes para conferir condutividade ao material, sendo necessária a presença de ligações duplas conjugadas ao longo da rede polimérica para permitir a mobilidade desses elétrons π [91]. Portanto, a tinta condutora de carbono otimizada no trabalho provavelmente contribui para o fenômeno observado. O mecanismo de eletropolimerização é descrito

no artigo e um estudo avaliando o pH da polimerização indicou que o pH 5 apresentou o melhor desempenho, estando de acordo com pI da fenilalanina (5,48).

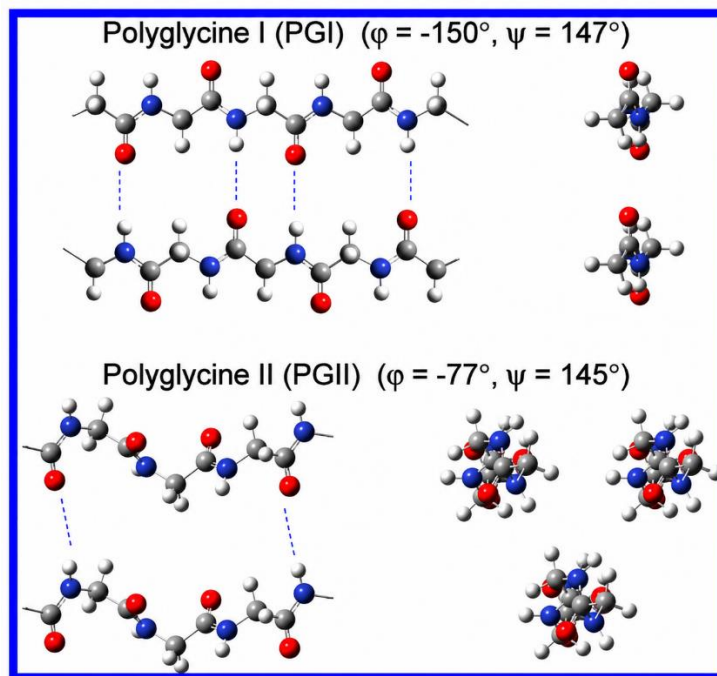


Figura 11: Duas conformações de poliglicina ocorrem no estado sólido: a PGI, β -sheet-like, e a PGII, com hélice 3_1 -estendida. **Fonte:** Bykov, S. e Asher, S., (2010).

Para o sensor de P-Met, a eletropolimerização foi realizada por CV na faixa de $-0,6$ a $2,0$ V, com 10 ciclos, sendo observado um aumento discreto da corrente a cada novo ciclo [88]. Um estudo de pH foi conduzido para a formação do polímero impresso, no qual o pH 7 apresentou o maior aumento de corrente, apesar de o pI da L-metionina ser 5,74. Esse resultado foi determinado com base na oxidação do diclofenaco, que ocorre em aproximadamente $0,6$ V, não sendo, portanto, dependente exclusivamente do aminoácido. Diferentemente dos demais trabalhos, este utilizou uma abordagem computacional para investigar as interações entre a L-metionina em diferentes formas (neutra e zwitteriônica) e o diclofenaco, por meio da Teoria do Funcional da Densidade (DFT). Os resultados indicaram que a forma zwitteriônica apresenta maior estabilidade tanto na fase gasosa quanto em meio aquoso.

Na eletropolimerização da L-leucina, o MIP foi construído sobre um eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com rGO eletrodepositado e nanopartículas de ouro (AuNPs), utilizando CV na faixa de $-0,5$ a $2,0$ V, com 5 ciclos, em tampão fosfato (PB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6. Observou-se uma diminuição da corrente a cada novo ciclo,

indicando que o filme formado não apresentou características condutoras. No entanto, a resposta da sonda eletroquímica não foi completamente suprimida. Esse comportamento pode ser explicado por dois fatores: (i) o número reduzido de ciclos de eletropolimerização, possivelmente insuficiente para bloquear completamente a superfície do eletrodo e comprometer a resposta do ferricianeto de potássio; e (ii) a presença de nanomateriais na construção do sensor, os quais podem contribuir para o aumento da condutividade e a permanência do sinal redox da sonda.

1.12.2 Interações polímero e analito

Estruturalmente, a P-Gly apresenta grupos funcionais do tipo N–H e C=O ao longo da matriz polimérica, permanecendo disponíveis para interação, sendo as Ligações de hidrogênio o principal tipo de interação envolvido [89]. No dispositivo GCE/rGO@Poly(Gly), o Mono-RHL possui grupos funcionais hidroxilas (-OH), presentes na porção de ramnose, e grupo carboxílico (-COOH), que favorecem interações por ligação de hidrogênio com a matriz polimérica.

Interações eletrostáticas também podem ocorrer, embora de forma menos significativa. Em pH próximo de 7, a P-Gly pode apresentar grupos amino protonados (-NH_3^+) e grupos carboxilato (-COO^-), enquanto o Mono-RHL pode estar parcialmente ionizado. Dessa forma, interações entre cargas opostas podem contribuir, ainda que secundariamente, para a estabilização do complexo pré-polimerização e, conseqüentemente, para a formação das cavidades seletivas [92]. As interações hidrofóbicas também devem ser consideradas. O Mono-RHL apresenta uma longa cadeia alquílica hidrofóbica e a organização tridimensional da poliglicina pode gerar microambientes menos polares, favorecendo a acomodação dessa cadeia e contribuindo para a estabilização do sistema por exclusão de água [92].

No dispositivo MIP-Gly/PGE aplicado ao amarelo crepúsculo, observa-se uma mudança no perfil das interações predominantes. Nesse caso, as interações eletrostáticas são dominantes devido à presença de grupos sulfonato (-SO_3^-) no analito e grupos amino protonados (-NH_3^+) na P-Gly, especialmente em pH 5, onde a protonação é favorecida. Ligações de hidrogênio também podem ocorrer, envolvendo os átomos de oxigênio dos grupos sulfonato como aceptores e os grupos N–H da P-

Gly como doadores. Além disso, o grupo azo ($-N=N-$) pode atuar como um aceitador de elétrons, contribuindo para interações adicionais do tipo dipolo.

Diferentemente do Mono-RHL, o amarelo crepúsculo apresenta anéis aromáticos conjugados, o que possibilita interações do tipo π -dipolo e dipolo induzido com o polímero. No entanto, interações π - π clássicas não são esperadas, uma vez que a P-Gly não apresenta sistemas aromáticos em sua estrutura [93]. Interações π - π são amplamente descritas como determinantes em sistemas MIP envolvendo compostos aromáticos, pois promovem reconhecimento baseado em complementaridade eletrônica e geométrica, sendo particularmente relevantes em sensores eletroquímicos baseados em materiais grafiticos ou aromáticos conjugados [56].

No dispositivo SPCE/MIP utilizado para a quantificação de paracetamol (AP), a poli(fenilalanina) (P-Phe) deve interagir predominantemente por meio de interações do tipo π - π , uma vez que tanto o polímero quanto o analito apresentam anéis aromáticos em suas estruturas. Essas interações contribuem significativamente para a orientação e estabilização do analito no interior das cavidades impressas [93]. Em relação às ligações de hidrogênio, o AP apresenta grupos hidroxila ligados ao anel aromático ($-OH$) e grupo amida ($-NH-CO-$), que podem atuar como doadores e aceptores de hidrogênio. A P-Phe possui grupos amida ao longo da cadeia polimérica ($-NH$ e $-C=O$), que atuam como doador eceptor, respectivamente. Essas interações contribuem para o aumento da especificidade das cavidades formadas. A presença simultânea de múltiplos sítios de ligação de hidrogênio favorece a formação de complexos pré-polimerização mais estáveis, refletindo diretamente nas cavidades impressas [55].

Para as interações hidrofóbicas, a P-Phe apresenta uma cadeia lateral aromática hidrofóbica (índice de hidropatia de 2,8), enquanto o AP apesar de ser uma molécula globalmente polar, contém um anel aromático que confere caráter hidrofóbico local. Essa interação favorece a exclusão de moléculas de água da cavidade, contribuindo para a estabilização do complexo analito-polímero. Esse efeito é frequentemente associado à redução da constante dielétrica local dentro da cavidade, o que intensifica interações intermoleculares e melhora a seletividade do MIP [80].

No sistema envolvendo a P-Met para determinação do diclofenaco (DCF), o cenário é particularmente interessante devido à combinação de um monômero neutro, relativamente hidrofóbico (índice de hidropatia de 1,9) e contendo enxofre (grupo tioéter), com um analito aromático, anfifílico e predominantemente aniônico em pH 7. Esse conjunto favorece um perfil de interações mais equilibrado, sem um único mecanismo dominante, embora algumas interações se destaquem. A presença de heteroátomos como o enxofre pode contribuir para interações específicas, como forças de dispersão aprimoradas e possíveis interações do tipo S- π , que têm sido relatadas como relevantes em sistemas envolvendo compostos aromáticos [94].

No que se refere às interações eletrostáticas, o DCF apresenta um grupo carboxilato ($-\text{COO}^-$) em pH neutro, enquanto a P-Met não possui carga em sua cadeia lateral. No entanto, grupos terminais protonados ($-\text{NH}_3^+$) podem estar presentes, contribuindo para interações eletrostáticas de forma secundária, sendo menos expressivas do que em sistemas altamente carregados. Esse comportamento é típico de MIPs baseados em monômeros neutros, nos quais interações eletrostáticas atuam de forma complementar e não dominante [55].

Em relação às interações hidrofóbicas, o diclofenaco apresenta caráter fortemente hidrofóbico, devido à presença de dois anéis aromáticos, enquanto a P-Met possui uma cadeia lateral apolar contendo enxofre. Dessa forma, há uma afinidade hidrofóbica significativa entre o analito e o polímero, favorecendo a exclusão de moléculas de água da interface e contribuindo para a estabilização do complexo, sendo uma das interações-chave desse sistema. Interações hidrofóbicas são frequentemente associadas a melhorias na estabilidade do complexo em meio aquoso, sendo cruciais para aplicações ambientais e biológicas [80].

Para o sensor baseado em P-Leu aplicado à determinação de X3OS, observa-se um contraste marcante entre um monômero altamente hidrofóbico, contendo cadeia lateral isobutílica, e um analito altamente hidrofílico, rico em grupos hidroxila, característico de oligossacarídeos. Assim, o reconhecimento molecular é governado por um balanço entre Ligações de hidrogênio e efeitos hidrofóbicos estruturais. Esse tipo de sistema evidencia a importância do microambiente da cavidade, que pode favorecer interações específicas mesmo entre espécies de polaridade contrastante [56].

As Ligações de hidrogênio desempenham papel fundamental, uma vez que o X3OS apresenta múltiplos grupos hidroxila que podem atuar como doadores e aceptores, enquanto a P-Leu tem grupos amida ao longo da cadeia polimérica (-NH e -C=O), atuando como doador eceptor, respectivamente. Essas interações são essenciais para a orientação adequada do analito e para a formação de cavidades seletivas. A multiplicidade de interações de hidrogênio é um fator chave para o reconhecimento de carboidratos em MIPs, devido à sua alta densidade de grupos funcionais polares [55].

O caráter hidrofóbico da P-Leu (índice de hidropatia de 3,8), em contraste com a alta hidrofiliabilidade do xilotriose (X3OS), favorece a exclusão de água na região da cavidade, criando um microambiente que intensifica as interações por ligação de hidrogênio. Quanto às interações eletrostáticas, estas podem ser consideradas desprezíveis na formação das cavidades, uma vez que tanto a P-Leu quanto o xilotriose são predominantemente neutros nas condições avaliadas. Esse comportamento reforça que, em sistemas neutros, a seletividade é majoritariamente governada por interações direcionais, como Ligações de hidrogênio e efeitos hidrofóbicos.

Um resumo com as informações desses sistemas é mostrado na Tabela 6, onde podemos verificar que para os polímeros apolares, a ligação de hidrogênio é a principal forma que comanda a formação das cavidades, porém, vimos que as estruturas presentes nos analitos são importantes e podem influenciar nas interações dessa classe de aminoácidos.

Tabela 6: Resumo das comparações das interações em sistemas apolares.

Sistema (Polímero/Analito)	Interações dominantes
P-Gly + Monoramnolípídeo	Ligações de hidrogênio
P-Gly + Amarelo crepúsculo	Eletrostática
P-Phe + Paracetamol	Interações π - π
P-Met + Diclofenaco	Hidrofóbica + Ligação de hidrogênio
P-Leu + Xilotriose	Ligação de hidrogênio multidentadas + efeito hidrofóbico estrutural

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Para o sensor de P-Phe, as condições experimentais de eletropolimerização foram estabelecidas por voltametria cíclica (CV), na faixa de potencial de $-1,0$ a $1,5$ V, com 10 ciclos [87]. Observou-se um aumento da corrente a cada novo ciclo, o que indica a formação de um filme com características condutoras. Esse ganho de corrente pode estar relacionado à presença de elétrons π deslocalizados nos anéis aromáticos da estrutura da P-Phe. No entanto, somente esses anéis não são suficientes para conferir condutividade ao material, sendo necessária a presença de ligações duplas conjugadas ao longo da rede polimérica para permitir a mobilidade desses elétrons π [91]. Portanto, a tinta condutora de carbono otimizada no trabalho provavelmente contribui para o fenômeno observado. O mecanismo de eletropolimerização é descrito no artigo e um estudo avaliando o pH da polimerização indicou que o pH 5 apresentou o melhor desempenho, estando de acordo com pI da fenilalanina (5,48).

1.12.3 Extração

O dispositivo GCE/rGO@Poly(Gly) utilizou uma mistura de água e etanol (9:1) para a extração do Mono-RHL, com um tempo de extração de 2,5min, relativamente curto quando comparado a outros sensores MIPs descritos na literatura, o que indica uma cinética de extração favorável. A mistura água/etanol atua de forma sinérgica: a água promove a solvatação das regiões polares do analito e do polímero, enfraquecendo Ligações de hidrogênio, enquanto o etanol reduz interações hidrofóbicas e melhora a solubilização da porção apolar do Mono-RHL. Essa combinação favoreceu a difusão de extração do analito, o que permitiu a formação de cavidades específicas.

A baixa fração de etanol (10%) mostrou-se suficiente para auxiliar na extração sem comprometer significativamente a estabilidade intradia do filme de P-Gly, uma vez que estudos de repetibilidade indicaram a possibilidade de reutilização do mesmo eletrodo por até quatro ciclos. Por outro lado, a estabilidade interdia foi afetada, sendo atribuída pelos autores a efeitos cumulativos do etanol ao longo do tempo. Esse comportamento é corroborado por estudos de otimização da proporção água/etanol, nos quais o aumento da fração de etanol resultou em maiores desvios entre as medições. Em termos de desempenho analítico, o dispositivo apresentou fator de impressão e seletividade de 3,1 e 2,8, respectivamente, valores que indicam boa

eficiência de impressão e adequada capacidade de reconhecimento seletivo do sistema desenvolvido.

O dispositivo MIP-Gly/PGE desenvolvido para determinar o amarelo crepúsculo utilizou extração eletroquímica por voltametria cíclica (CV), com 5 ciclos em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 5). Nessas condições, o meio tamponado deve ter contribuído para a estabilidade do filme de P-Gly e, simultaneamente, modula as interações entre o polímero e o analito, especialmente Ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas. Durante o processo, a aplicação de ciclos sucessivos de potencial promoveu a oxidação do amarelo crepúsculo em aproximadamente +0,68 V, o que deve ter enfraquecido suas interações com os sítios de reconhecimento do MIP e facilitado sua difusão para fora da matriz polimérica. Esse mecanismo evidencia uma estratégia eficiente de extração, baseada na conversão eletroquímica do analito.

Em relação à seletividade, os autores realizaram estudos com interferentes, demonstrando que a presença de outras moléculas não comprometeu significativamente a resposta do sensor. No entanto, parâmetros quantitativos como os coeficientes α e β não foram determinados, uma vez que o polímero não impresso (NIP) não foi avaliado no estudo, limitando análises mais robustas da seletividade. Quanto à estabilidade, o dispositivo foi avaliado após duas semanas de preparo, mantendo a mesma performance analítica, o que indica boa estabilidade ao longo do tempo.

Para o dispositivo com P-Met para quantificação do diclofenaco, as interações são predominantemente hidrofóbicas, com contribuição adicional de ligações de hidrogênio, resultando em retenção moderada do analito na matriz polimérica. A cadeia lateral apolar da metionina favorece interações com regiões hidrofóbicas do diclofenaco, enquanto grupos funcionais do fármaco participam de interações complementares. A extração com etanol/acetonitrila/NaOH atua de forma sinérgica: os solventes orgânicos promovem a solubilização do analito e enfraquecem interações hidrofóbicas, enquanto o meio básico desprotona o diclofenaco, aumentando sua solubilidade e reduzindo ligações de hidrogênio. Essa combinação resulta em uma cinética rápida permite uma remoção eficiente do molde.

Na plataforma com P-Phe para determinação do paracetamol, foi avaliado diferentes estratégias de extração, NaOH em diferentes concentrações, ácido acético e mistura de água etanol, sendo a extração por NaOH na concentração de 0,05 mol L⁻¹, a mais eficiente. Isso indica que a dessorção do analito é favorecida em meio básico devido à desestabilização das interações intermoleculares responsáveis pela retenção do molde. O aumento do pH promoveu a desprotonação de grupos funcionais, enfraquecendo ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas residuais, facilitando a remoção do analito das cavidades impressas [56,95] O mecanismo predominante de reconhecimento molecular está associado a interações do tipo π - π . Essas interações são relativamente fortes e direcionais, contribuindo significativamente para a estabilidade do analito na rede polimérica. O uso de NaOH não atua diretamente na quebra das interações π - π , mas sim na desestabilização de interações secundárias (como ligações de hidrogênio), o que já é suficiente para permitir a difusão e remoção do analito [80] Em termos seletividade, o sensor apresenta um fator de impressão de 12,5, evidenciando excelente formação de cavidades específicas e eficientes no reconhecimento do analito. Sobre a estabilidade o dispositivo no teste de robustez pode ser utilizado até 4 vezes antes de perder significativamente a resposta, sendo estável por 40 dias preservando cerca de 74% da resposta inicial.

No dispositivo MIP com P-Leu para quantificar a xilotriose (X3OS), diferentes métodos de extração foram avaliados, incluindo etanol, ácido acético, acetonitrila e eletroquímica com NaOH. O etanol apresentou melhor desempenho, com tempo ótimo de 10 minutos, devido à sua capacidade de solubilizar o analito e romper interações no interior das cavidades. Esse efeito pode ser atribuído à sua natureza anfifílica, que permite tanto a solvatação de regiões polares do X3OS, ricas em -OH, quanto a perturbação de interações hidrofóbicas presentes no microambiente da cavidade formada pela P-Leu. O sensor apresentou limitação de reuso, com perda de resposta após dois ciclos, indicando baixa estabilidade operacional. Por outro lado, mostrou boa seletividade, com fator α de 3,1 e valores de β entre 1,7 e 3,4, além de estabilidade interdiária de até 6 dias.

1.13 MIPS com aminoácidos polares não carregados

Os AAs polares neutros são aqueles que não possuem carga líquida no grupo R, mas tem grupos funcionais capazes de formar Ligações de hidrogênio, como --OH, amidas e -SH. A serina, treonina, cisteína, asparagina, glutamina e tirosina, são os integrantes dessa classe que compartilham características estruturais e propriedades químicas semelhantes (Tabela 3). Esses AAs têm cadeias laterais contendo O, N ou S, que conferem caráter hidrofílico moderado, o que reflete nos valores geralmente negativos ou próximos de zero no índice de hidropatia [70]. Esses compostos normalmente estão localizados na superfície das proteínas, participando de interações com o meio aquoso e estabilizando estruturas por meio de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas.

Essa classe apresenta uma maior diversidade química que os outros, onde a serina e treonina possuem grupos --OH, asparagina e glutamina apresentam grupos --CONH₂, a cisteína contém um grupo --SH que tem alta reatividade, e a tirosina combina um anel aromático com uma hidroxila fenólica. Essa variedade nos grupos laterais permite a formação de múltiplas interações não covalentes como as Ligações de hidrogênio, interações ácido-base fracas e no caso da tirosina interações π e hidrofóbicas adicionais. A cisteína, diferencia-se por formar interações específicas envolvendo enxofre, além de possíveis ligações dissulfeto em sistemas biológicos.

Com relação as propriedades ácido-base, os AAs polares neutros possuem valores de pI geralmente próximos da neutralidade (5,5 – 6,5), com exceção da cisteína (~5,0) e da tirosina (~5,7), cujas cadeias laterais podem ionizar em condições específicas de pH. Assim como os AAs apolares, possuem dois pKa principais (grupos -NH e -COOH), mas podem ter contribuições do grupamento R [109].

Em MIPS baseados em PAAs, essa classe é particularmente interessante devido a possibilidade de formar redes extensas de Ligações de hidrogênio com o analito, O que favorece um reconhecimento seletivo, principalmente para moléculas polares, carboidratos, fármacos e biomoléculas. Além disso, a presença de diferentes grupos funcionais permite ajustar o microambiente do polímero, o que acaba equilibrando as interações hidrofílicas e, em alguns casos, contribuições hidrofóbicas (como na tirosina). Estudos recentes destacam que monômeros contendo grupos hidroxila e amida são altamente eficientes na formação de cavidades MIP com alta

afinidade e seletividade, especialmente quando combinados com estratégias de modelagem molecular como DFT [113].

Desta classe, diversos trabalhos têm sido reportados na literatura utilizando esses AAs como FM em sensores eletroquímicos do tipo MIP, com destaque para sistemas baseados em P-Ser e P-Cys, aplicados na quantificação de fármacos, corantes e biomoléculas (Tabela 7). Esses resultados reforçam o potencial dos aminoácidos polares neutros como blocos versáteis no design racional de MIPs, especialmente quando o reconhecimento molecular depende predominantemente de ligações de hidrogênio e interações específicas de polaridade. Para esta classe foram listados 9 trabalhos sendo 2 de P-Ser e 7 de P-Cys, tendo, portanto, 4 AAs que ainda não foram explorados (treonina, asparagina, glutamina e tirosina).

Em uma pesquisa recente, um mesmo dispositivo foi desenvolvido e otimizado para dois analitos diferentes. Um GCE foi a base da plataforma com eletrodeposição de rGO e MnNPS com e-MIP de P-Ser, um para determinar o ácido 3-HDA, um indicador indireto de RHLs [96] e outro para o ácido palmítico um ácido graxo precursor de RHLs [57]. Os intervalos de linearidade foram os mesmos de $2,0 \times 10^{-12}$ – $1,0 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹, obtendo LD de $0,83 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹ para o 3-HDA e de $0,86 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹ para o ácido palmítico. Ambas as plataformas foram seletivas, reprodutíveis e estáveis, sendo um aplicando em amostras reais de RHLs oriundo de resíduos de frutas e o outro em óleo de semente de goiaba, na qual houve a validação da metodologia analítica desenvolvida.

Em outra pesquisa, um novo sensor eletroquímico e-MIP foi desenvolvido para a quantificação do antibiótico ceftizoxima, obtendo em LD de 1×10^{-10} mol L⁻¹. O sensor foi estruturado em um eletrodo de carbono vítreo, com a adição de uma suspensão de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) com a eletropolimerização de L-Cys como FM (GCE/MWCNT/P-Cys@MIP) [97]. Outro dispositivo foi desenvolvido para a mesma classe de molécula, a enroflaxacina um antibiótico. Um GCE foi limpo e modificado com pontos quânticos de carbono dopados com N (N-CDs) e MWCNTs, dispersos em quitosana (CS). Posteriormente utilizando a CV a L-Cys foi eletropolimerizada na presença do analito, resultando no dispositivo final (MIP/CS/N-CDs/MWCNTs). O intervalo de linear de concentração foi amplo de

$5,0 \times 10^{-8}$ até $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com LD de $3,43 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ sendo aplicado em amostras de carne de peixe e água de lago [98].

Nessa linha de medicamentos e moléculas com importância farmacológicas um dispositivo foi desenvolvido para a determinação de cetamina (KT) substância com propriedades anestésicas. Sobre a superfície do GCE limpo a L-Cys foi eletropolimerizada na presença de KT. A faixa de trabalho foi de $0,5 \times 10^{-6}$ à $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ obtendo um LD de $1,6 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, aplicando o dispositivo em amostras de cabelo e urina [99].

Um sensor para a proteína Albumina Sérica Bovina (BSA) foi desenvolvido sobre um GCE utilizando estruturas metalorgânicas porosas de Ti-benzenodicarboxilato funcionalizadas com grupos amino, suportadas por nanopartículas de ouro (Au/NH₂ - MIL-125(Ti)) modificadas com grafeno Au@NH₂ - MIL-125(Ti)-Gr, e na última camada eletropolimerização a L-Cys por CV na presença da BSA formando o e-MIP (MIP-Au@NH₂-MIL-125(Ti)-Gr/GCE). O sensor apresentou linearidade na faixa de $1,0 \times 10^{-18}$ à $1,0 \times 10^{-12}$ g mL⁻¹ com LD de $4,2 \times 10^{-19}$ g mL⁻¹, sendo o dispositivo seletivo, estável e aplicado em amostras de leite [100].

Na linha de biomoléculas importantes a curcumina que possui propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes foi determinada utilizando uma plataforma de GCE modificado com nanotubos de carbono decorados com CuCo₂O₄ com adição de GO fosfonado (P-GO) e por fim eletropolimerização de L-Cys por CV na presença do analito para formação do dispositivo e-MIP (GCE/CuCo₂O₄/NCNTs/P-GO/poli(L-Cys)). A faixa de trabalho alcançada foi de $0,1 \times 10^{-6}$ à $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e limite de detecção de $30,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, posteriormente o sensor foi aplicado em amostra de soro sanguíneo enriquecidas [101]. Na mesma classe de analitos, o flavonoide quercetina foi determinado utilizando um GCE modificado com uma pasta de carbono magnética (MCPE) que posteriormente recebeu um material híbrido de um material 2D com nanopartículas magnéticas (MXene/CFO). Através da CV o e-MIP de P-Cys com quercetina foi obtido (MCPE/MXene/CFO/MIP). Como resultados a faixa de trabalho foi de $5,0 \times 10^{-9}$ à $0,7 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, com LD de $1,6 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ e aplicação em suplementos alimentares [102].

O dispositivo foi desenvolvido para a quantificação da eritrosina B (ERT – B), um corante alimentício com potencial cancerígeno. A plataforma é constituída de

nanoestruturas 2D e 3D de CdS e nanotubos de TiO₂ (CdS/TiO₂NTs), com eletropolimerização da L-Cys e o ERT – B formando o dispositivo MIP/CdS/TiO₂ NTs. O intervalo de trabalho foi de $1,0 \times 10^{-10}$ à $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e LD de $4,1 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹, sendo aplicado em amostras de gelatina de morango em pó e confeitos [103].

Tabela 7: Aminoácidos polares não carregados em sensores MIPs.

Aminoácido	Eletrodo	Analito	LD (mol L ⁻¹)	Intervalo (mol L ⁻¹)	Amostra	Ref.
Serina	GCE/rGO/ MnNPs@L-Ser	Ácido 3- hidroxidecanóico	$0,83 \times 10^{-12}$	$2,0 \times 10^{-12}$ - $1,0 \times 10^{-11}$	RHL de resíduos goiaba	[96]
	GCE/rGO/ MnNPs@L-Ser	Ácido palmítico	$0,86 \times 10^{-12}$	$2,0 \times 10^{-12}$ - $1,0 \times 10^{-11}$	Óleo de semente de goiaba	[57]
Cisteína	GCE/MWCNT/ P-Cys	Ceftizoxima	$10,0 \times 10^{-9}$	1×10^{-9} - $1,0 \times 10^{-7}$	Sangue Urina	[97]
	MIP-Au@NH2- MIL-125(Ti)- Gr/GCE	Albumina sérica bovina	$*4,2 \times 10^{-19}$	$1,0 \times 10^{-18}$ - 1×10^{-12}	Leite	[100]
	L-Cys-KT- MIM/GCE	Cetamina	$1,6 \times 10^{-7}$	$0,5 \times 10^{-6}$ - $2,0 \times 10^{-5}$	Cabelo Urina	[99]
	GCE/CuCo ₂ O ₄ / NCNTs/P-GO/ poli(L-Cys)	Curcumina	$30,0 \times 10^{-9}$	$0,1 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-6}$	Soro enriquecido	[101]
	MIP/CdS/ TiO ₂ NTs	Eritrosina B	$4,1 \times 10^{-11}$	$1,0 \times 10^{-10}$ - $1,0 \times 10^{-4}$	Gelatina de morango em pó Confeitos	[103]
	MIP/CS/ N-CDs/ MWCNTs	Enrofloxacin	$3,43 \times 10^{-8}$	$5,0 \times 10^{-8}$ - $1,0 \times 10^{-4}$	Carne de peixe Água de lago	[98]
	MCPE/MXene/ CFO/MIP	Quercetina	$1,6 \times 10^{-9}$	$5,0 \times 10^{-9}$ - $0,7 \times 10^{-6}$	Suplementos	[102]

Fonte: Elaborada pelo próprio autor. * Unidade g mL⁻¹

1.13.1 Polimerização

Todos os MIPs desta classe foram construídos pelo método de eletropolimerização. A eletrossíntese da L-serina por voltametria cíclica (-0,3 a 1,3 V,

50 mV s⁻¹) em PBS pH 7 resulta na formação de um filme polimérico por meio da oxidação do monômero e subsequente acoplamento de espécies reativas na superfície do eletrodo [57,96]. Diferentemente de polipeptídeos obtidos por síntese convencional, esse processo ocorre fora do equilíbrio, levando à formação de uma rede estruturalmente heterogênea, composta por ligações do tipo C–N, possíveis ligações amida e interações intermoleculares [104].

Do ponto de vista estrutural, a P-Ser pode apresentar conformações típicas de polipeptídeos, como folhas β , α -hélice e regiões desordenadas, sendo a formação de β -sheet favorecida em meio aquoso devido às ligações de hidrogênio do grupo hidroxila [105]. No entanto, nas condições empregadas, é mais provável a formação de uma estrutura híbrida, com domínios localmente organizados dispersos em uma matriz desordenada, o que é vantajoso para MIPs, pois combina estabilidade das cavidades com flexibilidade estrutural e maior acessibilidade ao analito [104,105].

A eletropolimerização da L-cisteína por CV leva à formação de filmes poliméricos predominantemente via oxidação do grupo tiol (–SH), gerando radicais tília que se acoplam formando ligações dissulfeto (–S–S–). Esse é o principal mecanismo de crescimento, resultando em cadeias e redes tridimensionais reticuladas com caráter redox-ativo [106]. Podem ocorrer reações paralelas envolvendo acoplamento radicalar com carbono, levando à formação de ligações C–S e contribuindo para uma estrutura mais heterogênea [107].

Em condições mais oxidativas, especialmente em janelas de potencial mais amplas, também pode ocorrer a sobreoxidação do enxofre, formando espécies como sulfoxidos e sulfonas, o que aumenta a polaridade do filme, mas pode reduzir sua condutividade. Embora menos predominante, a participação dos grupos amina e carboxila pode levar à formação de ligações do tipo amida, contribuindo adicionalmente para a reticulação da rede [108].

De forma geral, a poli(cisteína) não apresenta uma estrutura única ou altamente organizada, sendo melhor descrita como uma rede tridimensional heterogênea composta principalmente por ligações dissulfeto, com contribuições de ligações C–S e diferentes estados de oxidação do enxofre [107]. Essa natureza estrutural é fortemente dependente das condições experimentais, como janela de potencial, pH e

velocidade de varredura. Em pH neutro, a presença de espécies tiolato (S^-) favorece a oxidação e a formação de ligações dissulfeto, enquanto em meio mais ácido a menor reatividade do tiol tende a reduzir o grau de reticulação [107].

Essa heterogeneidade estrutural é particularmente vantajosa em MIPs, pois favorece a formação de sítios de reconhecimento com diferentes geometrias e energias de interação, além de permitir maior adaptabilidade estrutural ao analito [108].

Dentro desta classe a polimerização da L-tirosina se diferencia das demais pois ocorre principalmente por meio da oxidação do grupo fenólico, gerando o radical fenóxi estabilizados por ressonância podendo se acoplar por diferentes rotas, formando ligações do tipo C–C e C–O–C [109,110]. Esses processos resultam em estruturas aromáticas parcialmente conjugadas, semelhantes a polímeros polifenólicos. Em condições mais oxidativas, pode ocorrer a formação de unidades quinona conferindo ao material caráter redox-ativo que contribuem para suas propriedades eletroquímicas [109].

A P-Tyr apresenta uma estrutura tridimensional heterogênea e altamente reticulada que é composta por uma combinação de ligações covalentes (C–C, C–O) e interações não covalentes, como ligações de hidrogênio e interações π – π [104,109,110]. Essa variedade de estruturas depende das condições de eletropolimerização e torna o material interessante em sensores e-MIPs, para a quantificação de compostos aromáticos, devido à sua capacidade de interação com essa estrutura.

1.13.2 Interações polímero e analito

A análise dos sistemas envolvendo P-Ser e P-Cys em MIPs revela um padrão interessante: ambos são monômeros altamente versáteis do ponto de vista químico, mas com naturezas distintas, a serina sendo polar hidroxilada e a cisteína contendo grupo tiol (SH), que adiciona capacidade de interação mais complexa (incluindo polarizabilidade e possíveis interações específicas com metais ou sistemas π).

Na plataforma envolvendo P-Ser com a determinação do ácido 3-hidroxidecanóico (3-HDA), o reconhecimento molecular é governado principalmente

por Ligações de hidrogênio entre os grupos -OH da serina e o grupo -OH e -COOH do ácido graxo. A presença de uma longa cadeia alquílica no analito também favorece interações hidrofóbicas, ainda que secundárias, contribuindo para a estabilização do complexo durante a etapa de pré-organização. É esperado para o dispositivo com P-Ser que determina o ácido palmítico, porém com menor contribuição de Ligações de hidrogênio (devido à ausência de -OH adicional no analito) e maior contribuição das interações hidrofóbicas e de van der Waals, comuns nos sistemas envolvendo ácidos graxos de cadeia longa. Essa interação é amplamente descrita em sistemas biomoleculares, nos quais ácidos graxos interagem com resíduos polares e hidrofóbicos simultaneamente, formando complexos estabilizados por múltiplas forças cooperativas [111].

Já nos sistemas com P-Cys, observa-se uma diversidade ainda maior de interações. No caso de dispositivo que utilizou dois monômeros (nicotinamida e L-cisteína) para determinar a ceftizoxima, esse antibiótico apresentou diferentes grupos funcionais, como carboxilato, cetona, anel aromático e heteroátomos nitrogenados, possibilitando múltiplos modos de interação com a matriz polimérica. Predominam ligações de hidrogênio entre os grupos amida da nicotinamida e os sítios do analito, bem como interações eletrostáticas, especialmente envolvendo o grupo -COO^- da enrofloxacin e regiões protonadas do polímero.

Além disso, a L-cisteína contribui significativamente para o reconhecimento molecular por meio do seu grupo tiol (-SH), que pode participar de interações dipolo-induzido e possíveis interações fracas com regiões hidrofóbicas da molécula. O grupo amina e o carboxilato da cisteína também ampliam a rede de ligações de hidrogênio, promovendo uma organização mais eficiente dos sítios impressos. A combinação sinérgica entre L-Cys e nicotinamida favorece, portanto, a formação de cavidades mais específicas, com microambientes capazes de interagir com a enrofloxacin por múltiplas forças não covalentes, aumentando a afinidade e a seletividade do sistema.

Para sensor com P-Cys que determina a quercetina, um polifenol altamente funcionalizado, o reconhecimento é fortemente governado por Ligações de hidrogênio múltiplas (devido às várias hidroxilas da quercetina), além de contribuições significativas de interações $\pi\text{-}\pi$ e hidrofóbicas. Embora a cisteína não seja aromática, o ambiente polimérico pode estabilizar os anéis aromáticos do analito por interações

Van Der Waals. Estudos mostram que flavonoides como a quercetina interagem com biomoléculas por uma combinação de Ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e diferentes interações π , o que reforça esse mecanismo [112].

No sistema P-Cys e albumina sérica bovina (BSA), a complexidade aumenta significativamente devido ao tamanho e natureza proteica do analito. A interação ocorre principalmente por múltiplos pontos de contato, incluindo ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas, além de possível reorganização conformacional do polímero ao redor da proteína. A literatura destaca que proteínas como a BSA possuem cavidades hidrofóbicas e sítios específicos de ligação capazes de interagir com diferentes ligantes através de múltiplas forças simultâneas [113], o que é análogo ao comportamento esperado em MIPs para macromoléculas.

Para o dispositivo desenvolvido com P-Cys para a quantificação da cetamina, uma molécula relativamente hidrofóbica com grupo amina, predominam interações hidrofóbicas e eletrostáticas, especialmente em pH onde a cetamina se encontra protonada. O grupo tiol da cisteína pode ainda contribuir com interações específicas de polarização, favorecendo a especificidade da cavidade.

No caso da plataforma eletroquímica com P-Cys para quantificar a curcumina, observa-se um padrão semelhante ao da quercetina, com forte contribuição de Ligações de hidrogênio (grupos fenólicos) e interações hidrofóbicas/ π , já que a curcumina possui uma estrutura conjugada extensa. Em sistemas MIP, compostos aromáticos conjugados frequentemente apresentam reconhecimento dominado por essas interações combinadas [114].

Para o sensor com P-Cys que determina a eritrosina B, um corante aniônico altamente iodado, o mecanismo dominante passa a ser eletrostático, devido aos grupos carregados negativamente do corante, combinado com interações de van der Waals e possíveis interações halogênio–dipolo. A presença do enxofre na cisteína pode aumentar a polarizabilidade do sistema, favorecendo interações com átomos pesados como o iodo.

No dispositivo com P-Cys desenvolvido para quantificar a enrofloxacin, um antibiótico fluoroquinolona com grupos aromáticos e ionizáveis, ocorre uma combinação de interações eletrostáticas (COO^-/NH^+), ligações de hidrogênio e

interações hidrofóbicas/ π . Esse tipo de comportamento é típico de fármacos aromáticos em sistemas MIP, onde múltiplas interações cooperativas determinam a seletividade [115].

As principais interações para essa classe de aminoácidos foram resumidas na Tabela 8, onde podemos verificar que para os polímeros apolares a ligação de hidrogênio continua sendo a principal forma que comanda a formação das cavidades, porém, notamos diferentes interações como forças de Van der Waals e interação do tipo π ocorrendo com mais frequência que nos apolares.

Tabela 8: Resumo das comparações das interações em sistemas polares Neutros.

Sistema (Polímero/Analito)	Interações dominantes
P-Ser + Ácido 3 – Hidroxidecanóico	Ligações de hidrogênio + Hidrofóbicas
P-Ser + Ácido palmítico	Hidrofóbicas + Ligações de hidrogênio
P-Cys + Ceftizaxima	Ligações de hidrogênio
P-Cys + Quercetina	Múltiplas Ligação de hidrogênio + Interações π - π + Hidrofóbica
P-Cys + Albumina sérica bovina	Múltiplas interações
P-Cys + Cetamina	Hidrofóbicas + Eletrostáticas
P-Cys + Curcumina	Ligações de hidrogênio + Hidrofóbicas/ π -conjugadas
P-Cys + Eritrosina B	Eletrostáticas + Van der Waals
P-Cys + Enrofloxacin	Ligações de hidrogênio + Eletrostáticas + Dipolo-induzido + Hidrofóbicas

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

1.13.3 Extração

Ambos os sensores com eletropolimerização de L-Ser desenvolvidos para a quantificação dos ácidos 3-hidroxidecanóico e palmítico, utilizaram uma extração eletroquímica em meio básico (NaOH 0,1 mol L⁻¹) através de 6 ciclos de CV no intervalo de potencial de 0,0 à 1,5 V com 50 mV s⁻¹. Em pH básico, tanto o ácido 3-hidroxidecanóico quanto o ácido palmítico estão na forma desprotonada (-COO⁻), o que reduz sua capacidade de formar ligações de hidrogênio com a P-Ser. A presença de OH⁻ em alta concentração compete diretamente por interações intermoleculares, enfraquecendo ainda mais as ligações de hidrogênio previamente estabelecidas entre o analito e os grupos funcionais do e-MIP.

A aplicação de um potencial positivo durante a CV pode induzir processos de oxidação superficial e reorganizar a estrutura do filme polimérico, o que vai contribuir para a ruptura das interações hidrofóbicas e acaba facilitando a difusão do analito para fora da matriz. A ionização dos analitos também aumenta sua solubilidade no meio aquoso, favorecendo sua cinética de extração.

Os fatores α e β corroboram com os resultados de extração, obtendo valores maiores que 2, sendo as cavidades seletivas para os analitos conseguindo diferenciar seus principais interferentes. Outro ponto de destaque é a estabilidade interdiária que alcançaram 18 dias com corrente preservada de 87% para o sensor da ácido 3-hidroxidecanóico e 80 dias com preservação de aproximadamente 80% do valor inicial para o ácido palmítico.

No dispositivo fotoeletroquímico envolvendo poli(cisteína) para determinar a eritrosina B, no qual predominam interações eletrostáticas e forças de van der Waals, a extração por voltametria cíclica (40 ciclos, $-0,6$ a $0,6$ V) em PBS mostrou-se adequada. Essas interações são relativamente fracas e reversíveis, sendo facilmente perturbadas pela aplicação de ciclos de potencial, que promovem reorganização do filme e variações no estado redox das ligações dissulfeto. Esse processo favorece a liberação do analito sem necessidade de condições químicas mais agressivas.

Essa abordagem menos agressiva é refletida na estabilidade do sensor. Em análises de reuso o dispositivo respondeu a 14 ciclos de irradiação sem alteração significativa nos valores de corrente, além de permanecer estável em 30 dias também sem variações significativas no sinal, o que mostra que as cavidades são comprometidas com o uso do sensor. Os autores realizaram medidas de seletividade, porém não utilizaram o controle não impresso, portanto, não houve o cálculo dos fatores α e β .

Para o dispositivo com P-Cys para quantificar a curcumina, a presença de ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e π -conjugadas torna o processo de extração mais desafiador. A utilização de CV na mesma janela de potencial do sensor anterior, sugere que a repetição dos ciclos é suficiente para promover perturbações sucessivas na interface polímero/solução, enfraquecendo gradualmente essas

interações. A natureza relativamente flexível da P-Cys também pode contribuir para facilitar a saída do analito mesmo em sistemas com múltiplos tipos de interação.

No caso da quercetina, que estabelece múltiplas ligações de hidrogênio e interações π - π , a utilização de voltametria de onda quadrada (SWV) indica uma abordagem mais energética e dinâmica. Os pulsos de potencial característicos dessa técnica promovem perturbações rápidas e repetidas, sendo mais eficazes na ruptura simultânea de interações cooperativas, especialmente em sistemas com maior grau de complexidade intermolecular.

O sensor apresentou uma estabilidade de reuso de 3 medidas consecutivas sem desvio, porém apesar de ter realizado a análise de seletividade os fatores de impressão e seletividade não foram calculados. Além desse estudo, uma análise da interferência foi realizada mostrando que a presença dos compostos não afeta a religação específica do analito.

Para o dispositivo desenvolvido para a quantificação da enrofloxacin, cujas interações com a poli(cisteína) são predominantemente eletrostáticas e hidrofóbicas, a extração foi realizada com etanol/ácido acético (9:1). Nesse caso, o solvente orgânico favorece a solubilização do analito, enquanto o meio ácido promove a protonação de grupos funcionais, reduzindo as interações eletrostáticas e facilitando a desorção. Essa estratégia é particularmente eficiente para compostos com caráter anfifílico.

Em relação ao reuso as cavidades se mantiveram estáveis por no mínimo 5 medidas consecutivas com desvio de apenas 0,42%, porém não foram avaliadas a seletividade específica de cada interferente para com a cavidade do analito e sim uma análise de interferência dos compostos na presença do analito. A estabilidade interdiária foi de 31 dias com desvio 2,31%

De forma semelhante, no sensor que determina a cetamina, a utilização de metanol/ácido acético (1:9) indica a necessidade de um meio fortemente ácido para promover a protonação do analito e do polímero, reduzindo significativamente as interações eletrostáticas. O metanol atua como solvente para aumentar a mobilidade e difusão do analito, favorecendo sua remoção em curto tempo. Nesse trabalho foi realizado apenas o estudo de interferentes não sendo calculados os fatores a e b. a

análise de reuso do sensor demonstrou que o mesmo pode ser utilizado mais de 20 vezes com queda de 9,2% do sinal de resposta.

No sensor para a determinação de ceftazidima, onde predominam ligações de hidrogênio, a extração em meio fortemente básico ($\text{NaOH } 0,25 \text{ mol L}^{-1}$) é altamente eficiente. A desprotonação dos grupos funcionais envolvidos nas ligações de hidrogênio enfraquece essas interações, promovendo a liberação rápida do analito. O aumento da solubilidade do analito na forma ionizada contribui para sua remoção. Os autores não realizaram a avaliação do controle não impresso (NIP) para calcular aos fatores de impressão e seletividade, mesmo assim é visível a diferença de sinal do analito para os interferentes estudados. Na análise de reuso o sensor pode ser reutilizado 5 vezes e permaneceu estável após 15 dias com desvio de inferior a 3% para ambas as análises.

No sensor para quantificar a albumina sérica bovina, que interage com a poli(cisteína) por múltiplos mecanismos (eletrostáticos, hidrofóbicos e ligações de hidrogênio), a extração em meio ácido (HCl) promove a protonação generalizada e possíveis alterações conformacionais da proteína. Esse efeito reduz sua afinidade pelo polímero e facilita sua remoção, sendo uma estratégia adequada para macromoléculas com alta complexidade estrutural.

O dispositivo foi estável por 40 dias mantendo 96,82% da corrente original e com reuso de 10 ciclos com desvio de 6,87%. O estudo de seletividade das cavidades foi realizado e o dispositivo foi seletivo para o analito, porém os cálculos de α e β não foram explorados.

1.14 MIPS com aminoácidos polares carregados positivamente

Os AAs polares carregados positivamente são aqueles que apresentam carga positiva em seus grupos R. Apenas três compostos fazem parte desta classe sendo eles a arginina, histidina e lisina, que compartilham características estruturais e propriedades químicas semelhantes (Tabela 3). Esses AAs possuem cadeias laterais contendo grupos nitrogenados básicos (grupo guanidínio na arginina, um grupo imidazol na histidina e grupo amino na lisina) que tem alta afinidade por H^+ e por isso um caráter hidrofílico tendo capacidade de participar em interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio.

Os valores de pI desses AAs são elevados, (lisina 9,74; histidina 7,59 e arginina 10,76) o que acaba por refletir a presença de grupos laterais protonáveis. Esses AAs possuem um terceiro pK_a associado ao grupo R, o que influencia diretamente sua capacidade de interação em diferentes faixas de pH. Em MIPs, essas características tornam esses monômeros particularmente interessantes para a formação de cavidades seletivas baseadas em interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio com analitos aniônicos ou polares. Apesar desse potencial, o número de trabalhos relatados até o presente momento é de 8 sendo 7 utilizando Poliarginina (P-Arg) e 1 utilizando Polilisina (P-Lis) não tendo nem MIP que use Polihistidina (P-His) (Tabela 9), indicando uma oportunidade promissora para o desenvolvimento de novos materiais com maior seletividade e sensibilidade.

O primeiro dispositivo utilizando P-Arg foi desenvolvido utilizando como eletrodo base GCE modificado com MWCNTs modificados com alginato de sódio (AS) e eletropolimerização de Arg na presença do analito teofilina, um medicamento respiratório, resultando no dispositivo MIP/SA-MWCNTs/GCE. Na construção da curva analítica o dispositivo obteve uma faixa linear de trabalho de 1×10^{-8} à 6×10^{-5} mol L⁻¹ apresentando LD de $3,2 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, sendo o sensor aplicado em amostras de comprimido, solução oral e soro sanguíneo [116].

Na plataforma desenvolvida para a determinação de Deoxinivalenol (DON), uma micotoxina que afeta diversas culturas da agricultura, foi utilizado GCE polido modificado com MWCNTs decorados com -COOH por gotejamento, sobre o qual foi o filme polimérico de P-Arg eletrossintetizado na presença de DON por CV gerando o dispositivo P-Arg-MIP/COOH-MWCNTs. Os parâmetros analíticos obtidos foram uma faixa linear de concentração de 1×10^{-7} à 7×10^{-5} mol L⁻¹ e LD de $7,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, sendo o sensor aplicados em amostras de farinha de trigo [117].

Em outro trabalho, foi desenvolvido um sensor eletroquímico e-MIP para a detecção ultrasensível de dimetridazol (DMZ). O dispositivo foi preparado por eletropolimerização de P-Arg em GCE por CV, utilizando o DMZ como molécula molde. O sensor apresentou excelente desempenho, com resposta linear entre $0,1 \times 10^{-9}$ à 10×10^{-6} mol L⁻¹ e LD de $1,0 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹. Também demonstrou boa aplicabilidade na análise de amostras reais, como ovos, leite e mel, com recuperações satisfatórias [118].

Para a determinação da Xilobiose (X2OS), foi desenvolvido um sensor eletroquímico MIP com eletrossíntese de P-Arg combinado com óxido de cobre poroso tridimensional (3DnpCu). O MIP/3DnpCu-GCE foi fabricado utilizando um método de molde de bolhas de hidrogênio dinâmicas. A plataforma apresentou uma ampla faixa de resposta linear de $1,0 \times 10^{-12}$ à $1,0 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹, com um LD de $7,7 \times 10^{-13}$ mol L⁻¹, sendo aplicado em amostras reais oriundas de casca de banana [119].

Foi desenvolvido um sensor eletroquímico utilizando nanotubos de carbono funcionalizados com ouro (Au@MWCNT-COOH) em GCE eletropolimerizando L-Arg na presença do analito 17 β – Estradiol (E2), um composto pertencente a classe dos hormônios. A modificação do eletrodo melhorou a transferência de elétrons e a sensibilidade, enquanto simulações moleculares foram usadas para otimizar o monômero e a formação dos sítios de reconhecimento. O sensor apresentou alta seletividade, ampla faixa linear ($1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ M) e limite de detecção de $3,3 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹, além de boa reprodutibilidade e estabilidade. Sua aplicação em amostras reais, como alimentos e soro humano, confirmou sua eficiência [120].

Para o cloranfenicol (CAP) foi utilizado um GCE sobre o qual foi eletropolimerizado a L-Arg na presença do CAP por CV, formando o dispositivo e-MIP GCE/MIP. O sensor desenvolvido apresenta uma ampla faixa linear de 1×10^{-12} mol L⁻¹ a 5×10^{-4} mol L⁻¹, e um LD de $1,36 \times 10^{-13}$ mol L⁻¹. o dispositivo mostrou excelente seletividade, resistência a interferências, repetibilidade. A detecção de CAP em amostras reais de mel foi realizada com sucesso [121].

Na quantificação do ácido fusárico (FA), um composto ligado a doenças de murcha em plantas, foi desenvolvido um sensor eletroquímico e-MIP baseado em P-Arg em GCE (AF/Arg@MIP/GCE). O dispositivo apresentou alta sensibilidade, com ampla faixa linear ($1,0 \times 10^{-12}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) e baixo LD ($1,11 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹), mostrou excelente seletividade, boa repetibilidade, reutilização e estabilidade. O sensor foi aplicado com sucesso no monitoramento de ácidos graxos em mudas banana pimenta e berinjela, mostrando potencial como ferramenta de alerta precoce no controle da murcha de *Fusarium* [122].

Tabela 9: Aminoácidos polares carregados positivamente em sensores MIPs.

Aminoácido	Eletrodo	Analito	LD	Intervalo	Amostra	Ref.
------------	----------	---------	----	-----------	---------	------

			(mol L ⁻¹)	(mol L ⁻¹)		
Arginina	MIP/SA-MWCNTs/GCE	Teofilina	$3,2 \times 10^{-9}$	$1,0 \times 10^{-8}$ – $6,0 \times 10^{-5}$	Comprimido teofilina Solução oral de teofilina Soro sanguíneo humano	[116]
	P-Arg-MIP/COOH-MWCNTs	Deoxinivalenol	$7,0 \times 10^{-8}$	$1,0 \times 10^{-7}$ – $7,0 \times 10^{-5}$	Farinha de trigo	[117]
	GCE/P-Arg@MIP	Dimetridazol	$1,0 \times 10^{-10}$	$1,0 \times 10^{-10}$ – $10,0 \times 10^{-6}$	Ovo Leite Mel	[118]
	MIP/3DnpCu-GCE	Xilobiose	$7,7 \times 10^{-13}$	$1,0 \times 10^{-12}$ – $1,0 \times 10^{-10}$	Hidrolisado enzimático de xilana	[119]
	MIM/Au@MWCNT-COOH/GCE	17 β -estradiol	$3,3 \times 10^{-11}$	$1,0 \times 10^{-10}$ – $1,0 \times 10^{-6}$	Água Leite Carne de Porco	[120]
	GCE/MIP	Cloranfenicol	$1,7 \times 10^{-13}$	$1,0 \times 10^{-12}$ – $5,0 \times 10^{-4}$	Mel	[121]
	FA/Arg@MIP/GCE	Ácido fusárico	$1,1 \times 10^{-12}$	$1,0 \times 10^{-12}$ – $1,0 \times 10^{-5}$	Mudas de bananeira, pimenta e berinjela	[122]
	MIP/SA-AC/GCE	Morfina	$4,8 \times 10^{-8}$	$1,0 \times 10^{-7}$ – $1,0 \times 10^{-3}$	Urina	[123]

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

O único dispositivo que utilizou a polilisina (P-Lis) foi desenvolvido para quantificar a morfina. Um GCE foi modificado com compósito de carbono ativado e alginato de sódio (AS-CA) e posteriormente o e-MIP foi realizado por eletropolimerização por CV de L-Lis na presença de morfina. A plataforma eletroquímica apresentou ampla faixa linear ($1,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹) e baixo LD ($4,8 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹), aplicando o dispositivo desenvolvido em amostras de urina humana [123].

1.14.1 Polimerização

A eletropolimerização da L-arginina por CV leva à formação de filmes poliméricos cuja estrutura é fortemente influenciada pelo grupo guanidínio presente na cadeia lateral, o qual permanece predominantemente protonado em pH neutro ($pK_a \approx 12,5$). Como consequência, a P-Arg apresenta caráter altamente catiônico, favorecendo a formação de redes estabilizadas principalmente por interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio [124]. Diferentemente de polipeptídeos obtidos por síntese convencional, o crescimento eletroquímico ocorre via oxidação do monômero e acoplamento de espécies reativas, resultando em uma rede tridimensional heterogênea contendo ligações do tipo C–N e possíveis contribuições amida [3].

As condições eletroquímicas empregadas nos diferentes sistemas influenciam diretamente a organização estrutural do filme. Janelas de potencial amplas, como nos trabalhos para clorafenicol, dimetridazol e 17β -estradiol (até $\sim 2,2$ – $2,4$ V), favorecem maior grau de oxidação e reticulação, podendo gerar filmes mais densos e com maior número de sítios ativos, porém também mais heterogêneos [3]. A redução do número de ciclos (sensores dimetridazol e deoxinivalenol) tende a produzir filmes mais finos e mais acessíveis, enquanto o aumento da velocidade de varredura, como no do deoxinivalenol (150 mV s^{-1}), limita o tempo de reorganização das espécies reativas, favorecendo estruturas mais desordenadas.

Nos sensores operando em janelas de potencial mais moderadas (sensores para teofilina, ácido fusárico e xilobiose), observa-se uma tendência à formação de filmes mais controlados estruturalmente. Em particular, o sensor para teofilina, com menor velocidade de varredura (50 mV s^{-1}) e maior número de ciclos, favorece um crescimento mais organizado e uniforme. Já o sensor para o ácido fusárico, com ausência de varredura em potenciais negativos, sugere um mecanismo predominantemente oxidativo, o que pode levar à formação de uma superfície mais funcionalizada e reativa [104].

De forma geral, em todos os sistemas avaliados em pH próximo ao neutro, a P-Arg tende a apresentar uma estrutura altamente carregada positivamente, o que limita a formação de estruturas secundárias bem definidas, como α -hélices ou folhas

β , devido à repulsão eletrostática entre cadeias laterais [124]. Assim, o material é melhor descrito como uma rede tridimensional heterogênea, composta por domínios localmente organizados e regiões desordenadas. Essa característica estrutural é particularmente vantajosa para aplicações em MIPs, pois favorece a formação de cavidades com diferentes geometrias e energias de interação, além de proporcionar alta afinidade por analitos aniônicos ou polares [104,124].

A eletrossíntese da L-lisina por CV ($-0,3$ a $1,3$ V, 50 mV s^{-1}) em PBS pH 7 leva à formação de um filme polimérico do tipo P-Lis, resultante da oxidação dos grupos amina e subsequente formação de ligações do tipo amida ($-\text{CONH}-$). Essa estrutura apresenta natureza análoga a polipeptídeos, porém com organização estrutural limitada devido ao crescimento fora do equilíbrio durante o processo eletroquímico.

A P-Lis é conhecida por apresentar forte dependência conformacional com o pH. Em meio ácido, predomina uma estrutura desordenada (random coil), enquanto em pH alcalino ocorre a formação de α -hélice. Já em condições intermediárias ou sob estímulos externos, podem surgir estruturas do tipo β -sheet [125]. Estudos mostram que diferentes condições (temperatura, agregação ou meio) podem levar à coexistência de α -hélice e β -sheet no mesmo sistema [126].

No pH 7 utilizado nos trabalhos, a P-Lis tende a apresentar uma conformação intermediária, com cadeias parcialmente protonadas, o que gera repulsão eletrostática e impede a formação de estruturas altamente organizadas. Como consequência, o filme formado deve ser predominantemente desordenado, contendo regiões locais com algum grau de organização secundária.

A eletropolimerização da L-His apresenta comportamento dos outros aminoácidos devido à presença do grupo imidazol, que possui pKa próximo de 6 sendo sensível a mudanças de pH. Próximo da neutralidade, por apresentar formas protonadas e desprotonadas acaba favorecendo múltiplas rotas de formação polimérica, influenciando diretamente o crescimento e a estrutura do filme. Na eletropolimerização o anel imidazol pode participar ativamente da oxidação, contribuindo para a formação de ligações C-N e possíveis acoplamentos entre estruturas heteroaromáticas, resultando em um material mais funcionalizado e estruturalmente complexo [104].

A P-Hist apresenta elevada versatilidade funcional o que acaba gerando filmes obtidos com uma rede tridimensional heterogênea, estabilizada por ligações de hidrogênio, interações π - π e diferentes tipos de ligações covalentes, sendo sua organização fortemente dependente das condições experimentais. Essa combinação de resposta ao pH, capacidade de coordenação e diversidade estrutural torna a P-His um material promissor para aplicações em e-MIPs e dispositivos eletroquímicos [104].

1.14.2 Interações polímero e analito

A análise dos dispositivos envolvendo poliarginina (P-Arg) e polilisina (P-Lys) em MIPs mostra um comportamento onde ambos são polímeros fortemente catiônicos, porém a arginina apresenta um grupo guanidínio, capaz de formar interações mais fortes e cooperativas do que a lisina. Isso faz com que o reconhecimento molecular seja frequentemente dominado por interações eletrostáticas e múltiplas Ligações de hidrogênio, podendo ter umas contribuições adicionais dependendo da natureza do analito.

No sensor com P-Arg para determinação de teofilina, o reconhecimento molecular é governado principalmente por Ligações de hidrogênio, uma vez que a teofilina possui múltiplos sítios doadores e aceitadores (N-H e C=O). Estudos experimentais e computacionais em MIPs mostram que a formação do complexo monômero–molde envolve redes de hidrogênio direcionais, sendo essas interações determinantes para a estabilidade e seletividade do sistema [116]. A P-Arg pode contribuir com interações eletrostáticas parciais e dipolo–dipolo, favorecendo a orientação do analito durante a polimerização.

Para a plataforma eletroquímica com P-Arg para quantificar Deoxinivalenol (DON), predomina Ligações de hidrogênio múltiplas entre as hidroxilas do DON e o grupo guanidínio da arginina. Esse grupo é particularmente eficiente na formação de interações bidentadas com espécies polares, o que aumenta significativamente a afinidade. A ausência de carga formal no DON reduz a contribuição eletrostática, tornando o reconhecimento mais dependente da geometria e densidade das Ligações de hidrogênio. Neste trabalho os autores fizeram um estudo por DFT com diferentes monômeros, inclusive sintéticos, e a P-Arg foi a escolhida para a construção do dispositivo pela maior estabilidade das energias de ligação de hidrogênio.

No dispositivo de P-Arg para determinação do dimetridazol, foi observado uma combinação de Ligações de hidrogênio (envolvendo grupos nitro e heterocíclicos do analito) e interações eletrostáticas fracas, especialmente em condições em que o fármaco pode apresentar regiões parcialmente carregadas. Interações hidrofóbicas também contribuem, dado o caráter aromático do dimetridazol.

Para o sensor com P-Arg e quantificação de xilobiose, um dissacarídeo altamente hidrofílico, o reconhecimento é dominado por Ligações de hidrogênio multidentadas, semelhantes ao caso de outros carboidratos. A P-Arg, devido ao seu caráter altamente polar e carregado, pode formar redes extensas de interação com os grupos -OH do açúcar, promovendo alta seletividade baseada em complementaridade espacial e funcional.

No caso de sensor com P-Arg e determinação de 17β -estradiol, a situação muda significativamente. O analito é majoritariamente hidrofóbico e aromático, com poucas hidroxilas. Assim, o reconhecimento ocorre por um balanço entre as Ligações de hidrogênio (grupos -OH do estradiol), interações hidrofóbicas com o esqueleto esteroidal e possíveis interações π -cátion, envolvendo o sistema aromático e o grupo guanidínio. Esse tipo de interação mista é comum em sistemas envolvendo hormônios esteroides. O estudo também utilizou a ferramenta DFT para escolher o monômero com melhor energia de ligação com o E2, dentre eles ácido metacrílico (MAA), acrilamida (AM), pirrol (Py), L -alanina (L -Ala) e L -cisteína (L -Cys).

Para a plataforma de P-Arg e determinação de cloranfenicol, que contém grupos nitro, hidroxila e amida, o reconhecimento é dominado por Ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, além de contribuição hidrofóbica do anel aromático. A presença de múltiplos heteroátomos favorece a formação de uma rede cooperativa de interações. Os possíveis sítios de ligação entre as moléculas de CAP e Arg foram calculados pelo potencial eletrostático molecular (MEP) e fundamentais para determinar as principais interações que podem estar dominando.

No sensor com P-Arg e determinação de ácido fusárico, a presença de um grupo carboxílico ionizável torna as interações eletrostáticas (COO^- /guanidínio) altamente relevantes. Polímeros ricos em arginina apresentam afinidade elevada por espécies aniônicas devido à capacidade do grupo guanidínio de formar interações

fortes e cooperativas com cargas negativas [127]. Essas interações são frequentemente acompanhadas por ligações de hidrogênio e interações π (anel aromático do ácido fusárico). Os autores testaram diferentes monômeros (arginina, fenol, anilina, tiofeno) e seus respectivos complexos com FA que mostram que a P-Arg obteve maior energia de ligação com o FA onde a principal interação foi por ligação de hidrogênio de força média.

No dispositivo de P-Lis para determinação de morfina, observa-se um comportamento semelhante, porém menos intenso em comparação a P-Arg. A morfina possui, grupos hidroxila (ligações de hidrogênio), amina protonável (interações eletrostáticas) e estrutura aromática (interações hidrofóbicas/ π). A P-Lis interage principalmente via interações eletrostáticas (NH_3^+ e grupos fenólicos/aniônicos) e ligações de hidrogênio. No entanto, estudos mostram que a P-Arg tende a interagir mais fortemente com espécies carregadas do que a P-Lis, devido à natureza do grupo guanidínio, que permite interações mais estáveis e cooperativas [116]. Através de cálculos teóricos a proporção as energias de ligação e a proporção entre monômero e analito foram otimizadas sendo a relação de 1:4 de morfina:lisina a mais estável.

De maneira geral, esses sistemas reforçam um conceito fundamental no desenvolvimento de MIPs, monômeros catiônicos como arginina e lisina são particularmente eficazes para analitos polares ou aniônicos, sendo o reconhecimento governado por uma combinação de Ligações de hidrogênio (direcionais), interações eletrostáticas (fortes em arginina) e interações hidrofóbicas (dependentes do analito). A Tabela 10 mostra um resumo das interações discutidas para o grupo polar carregado positivamente.

Tabela 10: Comparações das interações em sistemas polares carregados positivamente.

Sistema (Polímero/Analito)	Interações dominantes
P-Arg + Teofilina	Ligações de hidrogênio + Dipolo-dipolo + eletrostáticas fracas
P-Arg + Deoxinivalenol	Ligação de hidrogênio multidentadas
P-Arg + Dimetridazol	Ligações de hidrogênio + Eletrostáticas fracas + Hidrofóbicas

P-Arg + Xilobiose	Ligação de hidrogênio multidentadas
P-Arg + 17 β - Estradiol	Ligação de hidrogênio + Hidrofóbicas + π - cátion
P-Arg + Cloranfenicol	Ligações de hidrogênio + Eletrostáticas + Hidrofóbicas
P-Arg + Ácido fusárico	Eletrostáticas + Ligações de hidrogênio
P-Lis + Morfina	Eletrostáticas + Ligações de hidrogênio + Hidrofóbicas/ π

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

1.14.3 Extração

No sensor com P-Arg para determinação da teofilina, onde predominam ligações de hidrogênio, interações dipolo–dipolo e contribuições eletrostáticas, a extração com H₂SO₄ 1 mol L⁻¹ indica a necessidade de um meio fortemente ácido para romper as interações. A protonação intensa do meio reduz a capacidade da teofilina de atuar como acceptora de hidrogênio, além de promover competição por ligações de hidrogênio e enfraquecimento das interações de dipolo. Embora a P-Arg já seja catiônica, o ambiente altamente ácido aumenta a solubilidade do analito e favorece sua desorção.

Para o sensor com determinação de deoxinivalenol, caracterizado por ligações de hidrogênio multidentadas, a extração com acetonitrila sugere um mecanismo dominado por solvatação. Sendo um solvente polar aprótico, a acetonitrila rompe eficientemente redes extensas de ligações de hidrogênio, sem promover protonação significativa, o que é adequado para analitos com múltiplos grupos doadores/acceptores de H. Além disso, favorece a difusão do analito para o meio.

No caso do dispositivo para quantificar o dimetridazol, que interage por ligações de hidrogênio, forças eletrostáticas e interações hidrofóbicas, a extração em NaOH 0,25 M evidencia o papel da desprotonação. O meio básico reduz a contribuição das ligações de hidrogênio e pode neutralizar parcialmente interações eletrostáticas, além de aumentar a solubilidade do analito em sua forma ionizada. Esse efeito combinado facilita a ruptura das interações múltiplas em curto tempo.

Para a xilobiose, que apresenta múltiplas ligações de hidrogênio, a extração por voltametria cíclica em NaOH 0,25 M combina efeitos químicos e eletroquímicos. O meio básico promove a desorganização da rede de H-bonds, enquanto os ciclos de

potencial induzem perturbações na interface polímero/solução, facilitando a difusão de uma molécula altamente hidrofílica e fortemente ligada ao polímero.

No sistema poliarginina e 17 β -estradiol, onde coexistem interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e interações π -cátion (entre o anel aromático e o grupo guanidínio), a extração com etanol/ácido acético (4:1) é particularmente eficiente. O etanol solubiliza o analito hidrofóbico, enquanto o ácido acético promove protonação competitiva e enfraquece interações específicas, incluindo π -cátion, resultando em uma desorção eficaz.

Para o cloranfenicol, que apresenta interações mistas (ligações de H, eletrostáticas e hidrofóbicas), a extração com etanol indica que a solvatação do analito desempenha papel dominante. O solvente orgânico reduz as interações hidrofóbicas e enfraquece ligações de hidrogênio, sendo suficiente para promover a remoção sem necessidade de ajuste de pH.

No dispositivo para quantificar o ácido fusárico, caracterizado por interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio, a extração com etanol/NaOH (4:1) evidencia uma abordagem combinada. O meio básico promove a desprotonação do analito, reduzindo a atração eletrostática com a P-Arg, enquanto o etanol melhora a solubilidade e difusão. Essa sinergia torna o processo eficiente mesmo em sistemas com interação relativamente forte.

4.8 MIPs com aminoácidos carregados negativamente

Os AAs polares carregados negativamente são aqueles que apresentam carga líquida negativa em seu grupo R. Dentro desta classe estão o ácido aspártico e o ácido glutâmico, que compartilham características estruturais e propriedades químicas semelhantes (Tabela 3). Os dois tem cadeias laterais contendo grupos carboxílicos adicionais, o que acaba conferindo um caráter ácido, elevada hidrofiliabilidade (hidropatia de -3,5 para ambos) e grande capacidade de participar em interações eletrostáticas com espécies carregadas positivamente, além de formar ligações de hidrogênio. São encontrados nas superfícies das proteínas, e contribuem para a solubilidade, a estabilidade estrutural e nos MIPs, participam em sítios ativos e processos de reconhecimento molecular.

Sobre os valores de pI desses aminoácidos ambos são valores baixos, sendo 2,77 para o ácido aspártico e de 3,22 para o ácido glutâmico, o que acaba refletindo a presença de grupamentos laterais ácidos desprotonáveis. Além dos pK_a dos grupos α -amino e α -carboxílico, possuem um terceiro pK_a que é associado ao grupo carboxílico da cadeia lateral, que influencia diretamente no seu comportamento em diferentes faixas de pH . Em MIPs, essas características tornam esses monômeros relevantes para a formação de cavidades seletivas baseadas em interações eletrostáticas com analitos catiônicos, bem como Ligações de hidrogênio. Assim como observado para outras classes, o número de trabalhos ainda é pequeno, com poucos estudos explorando PAAs derivados de ácido aspártico ou ácido glutâmico em sensores eletroquímicos do tipo MIP (Tabela 11), apenas 4 pesquisas foram realizadas com esse grupo o que acaba evidenciando um campo promissor para futuras investigações.

Um dispositivo para a quantificação de metronidazol foi proposto utilizando um eletrodo de grafite de lápis (PGE) sobre o qual o e-MIP de P-Glu foi preparado com uma camada posterior de AuNPs resultando no dispositivo PGE/P-glu/AuNPs. Com esse sensor a faixa de trabalho foi de 6×10^{-11} a $8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e LD de $5,8 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$, sendo o sensor aplicado em amostras de comprimido (Abicon, Offzole e A□umet) [128].

Outro dispositivo utilizando P-Glu para a quantificação de hemoglobina foi desenvolvido em GCE, porém a metodologia de formação do MIP foi diferente dos demais, sendo um dos poucos trabalhos que não utilizaram polimerização eletroquímica. Além disso, o P-Glu foi utilizado na forma de copolímero com 7-amino-4-metilcumarina (AMC) preparado previamente (γ -PGA-g-AMC). Posteriormente, o copolímero foi complexado na presença da hemoglobina (Hb) resultando no dispositivo Hb@ γ -PGA-g-AMC MINPs. A curva de calibração foi realizada em uma ampla faixa de trabalho de $77,5 \times 10^{-9}$ a $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, o LD de $25,8 \text{ mol L}^{-1}$ [129].

Para a determinação de melamina outro copolímero de P-Glu foi empregado, porém dessa vez com poli dopamina (γ -PGA-DA) formados por polimerização química, modificado com Ag sobre um eletrodo de grafite (Gr), formando o dispositivo Ag/MEL/ γ -PGA-DA MINBs. A faixa de trabalho construída foi muito ampla variando de

5×10^{-18} a 5×10^{-7} mol L⁻¹, com um LD de $5,0 \times 10^{-18}$ mol L⁻¹, além disso a plataforma foi aplicada em amostras de leite fortificado [130].

O único trabalho utilizando a P-Asp foi desenvolvido para a quantificação de sacarose aplicado em caldo de cana-de-açúcar. A plataforma é constituída por um GCE com rGO eletrodepositado e polimerização eletroquímica de L-Asp. Como figura de mérito a curva apresentou faixa de 1×10^{-14} a 1×10^{-12} mol L⁻¹ obtendo um LD de $2,7 \times 10^{-15}$ mol L⁻¹.

Tabela 11: Aminoácidos polares carregados negativamente em sensores MIPs.

Aminoácido	Eletrodo	Analito	LD (mol L ⁻¹)	Intervalo (mol L ⁻¹)	Amostra	Ref.
Ácido Glutâmico	PGE/P-glu/AuNPs	Metronidazol	$5,8 \times 10^{-12}$	6×10^{-11} — 8×10^{-4}	Comprimido	[128]
	Hb@γ-PGA-g-AMC MINPs	Hemoglobina	$25,8 \times 10^{-9}$	$77,5 \times 10^{-9}$ — $1,6 \times 10^{-6}$	— — — —	[129]
	Ag/MEL/γ-PGA-DA MINBs	Melamina	$5,0 \times 10^{-18}$	5×10^{-18} — 5×10^{-7}	Leite fortificado	[130]
Ácido Aspártico	GCE/rGO@pAA	Sacarose	$2,7 \times 10^{-15}$	1×10^{-14} — 1×10^{-12}	Caldo de cana-de- açúcar	[131]

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

1.14.4 Polimerização

O P-Glu apresenta características estruturais diferentes pela presença de grupos carboxílicos na cadeia lateral, os quais, em pH neutro, encontram-se predominantemente na forma desprotonada ($-\text{COO}^-$). O polímero exibe caráter aniônico, favorecendo interações eletrostáticas com espécies catiônicas, além de formar extensas redes de ligações de hidrogênio [132,133]. No contexto da eletropolimerização por voltametria cíclica, como observado no sensor para metronidazol (+1,5 a -2,0 V, 10 ciclos, 100 mV s^{-1} , pH 7), o crescimento do filme ocorre via processos redox envolvendo grupos funcionais do monômero, resultando em uma rede tridimensional heterogênea composta por ligações do tipo C-N e possíveis ligações amida [104]. A ampla janela de potencial aplicada favorece tanto

processos oxidativos quanto redutivos, contribuindo para um maior grau de reticulação, mas também para a formação de estruturas menos ordenadas.

Nos dispositivos para determinar a melanina e a hemoglobina, baseados em copolímeros obtidos por síntese química via reações de amidação, observa-se um maior controle estrutural em comparação à eletropolimerização direta. A incorporação de 7-amino-4-metilcumarina (hemoglobina) introduz unidades aromáticas que podem favorecer interações π - π e aumentar a rigidez estrutural do material [134]. Já para melamina, a copolimerização com dopamina resulta em uma rede híbrida que combina as propriedades aniônicas do ácido glutâmico com o caráter catecólico da dopamina, permitindo a formação de estruturas semelhantes a polímeros polifenólicos, com presença de interações π - π , ligações de hidrogênio e unidades quinona após oxidação [109].

De forma geral, enquanto a eletropolimerização do ácido glutâmico tende a gerar filmes mais heterogêneos e funcionalmente ricos, porém menos organizados, os copolímeros obtidos por via química apresentam maior controle sobre a arquitetura molecular e a distribuição dos grupos funcionais. Em todos os casos, a presença de grupos carboxilato confere elevada hidrofiliabilidade e capacidade de interação com analitos polares ou carregados positivamente, o que é particularmente vantajoso para aplicações em MIPs [132,133]. Além disso, a possibilidade de modulação estrutural por copolimerização amplia significativamente o espectro de interações possíveis, permitindo o ajuste das propriedades de reconhecimento molecular [109,134].

A P-Asp apresenta comportamento estrutural semelhante ao da P-Glu, porém com maior densidade de grupos carboxílicos ao longo da cadeia, o que intensifica seu caráter aniônico em pH neutro, onde os grupos laterais encontram-se predominantemente na forma desprotonada ($-\text{COO}^-$). Essa característica favorece fortemente interações eletrostáticas com espécies catiônicas, além da formação de redes extensas de ligações de hidrogênio [133,135]. No processo de eletropolimerização por CV ($-1,5$ a $+2,0$ V, 3 ciclos, 100 mV s^{-1}), o crescimento do filme ocorre via ativação eletroquímica do monômero e acoplamento de espécies reativas, resultando em uma estrutura tridimensional heterogênea composta por ligações do tipo C-N, possíveis ligações amida e interações intermoleculares distribuídas de forma não uniforme [104]. A ampla janela de potencial aplicada

favorece tanto processos oxidativos quanto redutivos, contribuindo para a formação de uma rede reticulada, ainda que com baixo número de ciclos, o que tende a gerar filmes relativamente finos e mais acessíveis.

Do ponto de vista estrutural, a P-Asp pode apresentar diferentes conformações em solução, como estruturas tipo α -hélice, folhas β e conformações desordenadas, dependendo do pH e das interações intermoleculares [133][1]. No entanto, em filmes obtidos por eletropolimerização, é mais provável a formação de uma matriz predominantemente desorganizada, com domínios localmente estruturados. Essa organização parcial, aliada ao alto grau de funcionalização por grupos carboxilato, favorece a formação de sítios de reconhecimento em MIPs, especialmente para analitos catiônicos ou polares. Além disso, a combinação entre elevada hidrofiliabilidade e flexibilidade estrutural contribui para maior acessibilidade às cavidades impressas, o que pode resultar em melhor desempenho analítico [104,135].

1.14.5 Interações polímero e analito

Analisando os sistemas de P-Glu e P-Asp em sensores MIPs podemos observar um comportamento característico de polímeros aniônicos que possuem muitos grupos carboxilato ($-\text{COO}^-$), cuja capacidade de reconhecimento molecular é predominantemente por interações eletrostáticas, Ligações de hidrogênio e coordenação com espécies carregadas ou polares. Esses polímeros apresentam alta flexibilidade conformacional e forte interação com o meio aquoso, o que influencia diretamente a formação das cavidades impressas [136].

No dispositivo com P-Glu desenvolvido para determinar o metronidazol, essa interação molecular ocorre majoritariamente por ligações de hidrogênio entre os grupos nitro e heterocíclicos do metronidazol e os grupos amida e carboxilato do polímero. Embora o metronidazol seja globalmente neutro, sua alta densidade de heteroátomos favorece interações direcionais. Além disso, podem ocorrer interações dipolo–dipolo e eletrostáticas fracas, dependendo do estado de protonação. A literatura mostra que polímeros como o P-Glu apresentam grande capacidade de interação com fármacos por meio de redes de hidrogênio e interações polares, sendo amplamente utilizados como carreadores e matrizes de reconhecimento molecular [137].

No dispositivo construído para a hemoglobina há a contribuição das duas estruturas disponíveis provenientes dos monômeros. A fração de P-Glu atua principalmente por interações eletrostáticas entre os grupos COO^- e regiões catiônicas da proteína, enquanto a 7-amino-4-metilcumarina (AMC), que tem um sistema aromático conjugado, que contribui com interações do tipo π - π e π -cátion com resíduos aromáticos presentes na hemoglobina. Em sistemas MIP para proteínas, a presença de múltiplos tipos de interação é essencial, pois o reconhecimento ocorre por interações multissítio distribuídas na superfície da biomolécula, e não por um único ponto de ligação devido ser uma macromolécula. Esse comportamento é amplamente descrito em MIPs para proteínas, onde a combinação de interações eletrostáticas, hidrofóbicas e de hidrogênio é determinante para a seletividade.

Para o sistema desenvolvido com copolímero de dopamina e P-Glu para determinar a melanina, é mostrado o papel da polidopamina como matriz multifuncional. Em meio levemente alcalino ocorre a auto-polimerização da dopamina, formando um material rico em grupos catecol e amina, altamente aderente e capaz de interagir com uma ampla variedade de compostos [138]. Quando combinada com o P-Glu, o sistema passa a apresentar simultaneamente, interações eletrostáticas entre os grupos COO^- e os grupos ionizáveis da melanina, Ligações de hidrogênio, interações π - π entre a estrutura aromática da melanina e os domínios conjugados da polidopamina.

A melanina, por sua vez, é um biopolímero altamente conjugado e polarizável, o que favorece interações cooperativas múltiplas e contribui para a formação de cavidades MIP estruturalmente estáveis. Polímeros baseados em polidopamina têm sido amplamente utilizados em MIPs justamente por sua facilidade de polimerização química, biocompatibilidade e alta densidade de grupos funcionais, sendo especialmente eficazes para biomoléculas e compostos aromáticos [138,139].

No sensor contruído com P-Asp para determinar a sacarose, o mecanismo é dominado quase exclusivamente por Ligações de hidrogênio multidentadas. A sacarose, sendo um dissacarídeo altamente hidrofílico, apresenta diversos grupos hidroxila capazes de interagir com os grupos carboxilato e amida do polímero. Não há contribuição significativa de interações eletrostáticas (já que a sacarose é neutra), e

as interações hidrofóbicas são praticamente inexistentes. Assim, o reconhecimento depende fortemente de complementaridade geométrica, densidade e orientação das Ligações de hidrogênio. Esse tipo de interação é típico de sistemas envolvendo carboidratos, nos quais a seletividade está associada à formação de redes extensas de Ligações de hidrogênio e ao ajuste estérico da cavidade.

De forma geral, esses sistemas reforçam que polímeros baseados em ácidos dicarboxílicos (como glutâmico e aspártico) atuam como plataformas altamente hidrofílicas e aniônicas, sendo especialmente eficazes para analitos catiônicos ou polares (via interações eletrostáticas e Ligações de hidrogênio), biomoléculas (proteínas, pigmentos) com múltiplos sítios de interação. O comportamento conformacional desses polímeros (incluindo transições entre estruturas helicoidais e aleatórias, influenciadas por pH e força iônica) impacta diretamente a formação e estabilidade das cavidades MIP [136].

Tabela 12: Comparações das interações em sistemas polares carregados negativamente.

Sistema (Polímero/Analito)	Interações dominantes
P-Glu + Metronidazol	Ligações de hidrogênio + Eletrostáticas
(P-Glu+AMC) + Hemoglobina	Eletrostáticas + Interações π - π e π -cátion + Ligações de hidrogênio + Hidrofóbicas
(P-Glu+PDA) + Ceftizaxima	Eletrostáticas + Ligações de hidrogênio + Interações π - π
P-Asp + Sacarose	Ligação de hidrogênio multidentadas

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Esses sistemas demonstram claramente que monômeros aniônicos são ideais para analitos polares, biomoléculas e espécies carregadas positivamente, e que o reconhecimento em MIPs baseados em PAAs é fortemente dependente do pH e do ambiente iônico, o que deve ser cuidadosamente controlado no desenvolvimento de sensores. As principais interações estão resumidas na Tabela 12.

1.14.6 Extração

No sensor com P-Glu para quanti ficar o metronidazol, em que predominam ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, a extração eletroquímica por voltametria cíclica (0 a 1,6 V, 100 mV s⁻¹) em PBS mostra-se adequada para romper interações relativamente moderadas. Em pH neutro, a P-Glu encontra-se carregada negativamente (–COO⁻), favorecendo a interação com regiões protonadas do analito. A aplicação de potenciais positivos promove perturbações na interface polímero/solução e possível reorganização do filme, enfraquecendo as ligações de hidrogênio e reduzindo a contribuição eletrostática, o que facilita a difusão do analito para o meio.

A eficiência da extração pode ser observada pelo estudo de reuso onde o dispositivo desenvolvido pode ser reutilizado cerca de 6 vezes com desvio de 0,9%. O dispositivo permaneceu operante por 45 dias preservando 95,5% do sinal, o que mostra que a extração utilizada não tem efeitos negativos na estrutura do MIP e apesar de ter estudado a seletividade das cavidades de reconhecimento os coeficientes de seletividade e impressão não foram calculados.

No sensor que utilizou o copolímero de ácido glutâmico e 7-amino-4-metilcumarina para determinar a hemoglobina, foi observado um cenário mais complexo, com múltiplas interações (eletrostáticas, hidrofóbicas e ligações de hidrogênio). A extração com ácido acético:metanol (1:9) combina efeitos de protonação e solvatação, onde o meio ácido promove a protonação dos grupos funcionais da proteína e do polímero, o que acaba reduzindo interações eletrostáticas, enquanto o metanol contribui para desestabilizar interações hidrofóbicas e aumentar a mobilidade da macromolécula. Além disso, a presença de estruturas aromáticas da cumarina pode intensificar interações com a proteína, exigindo uma estratégia de extração mais agressiva e combinada. O sensor foi estável por 10 dias mantendo 90,0% do sinal inicial, senso seletivo e mostrando que outros compostos não interferiram no desempenho do dispositivo com valores entre 96 a 104%. Apesar de ter avaliado a seletividade os parâmetros α e β não foram explorados.

Para a plataforma eletroquímica com copolímero de ácido glutâmico e dopamina para quantificar a melamina, que envolve interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e interações π – π , a extração por cronoamperometria (1,4 V, PBS pH 7,

30 min) evidencia o papel da polarização contínua na remoção do analito. A aplicação de potencial constante favorece a oxidação de unidades catecólicas da dopamina, podendo gerar espécies quinônicas e promover reorganização do filme polimérico. Esse processo enfraquece simultaneamente diferentes tipos de interação e facilita a liberação da melamina, mesmo em um sistema com interações cooperativas. Além disso, a natureza aniônica do polímero reduz a afinidade eletrostática com o analito quando ocorrem mudanças locais de carga durante o processo eletroquímico. Para esse sensor, apenas um estudo de interferentes foi realizado para alguns possíveis compostos interferentes. Sobre a estabilidade o dispositivo permaneceu respondendo após 30 dias de fabricação com perda de 30% da resposta inicial.

No sensor que utilizou a P-Asp para determinar a sacarose, a interação principal são as múltiplas ligações de hidrogênio, devido a sacarose possui grande quantidade de grupos hidroxila capazes de atuar como doadores e aceptores de H. Em pH neutro, a P-Asp encontra-se na forma aniônica ($-\text{COO}^-$), o que favorece a formação de redes extensas de ligações de hidrogênio com o analito, resultando em uma interação relativamente forte e cooperativa. Esse caráter multidentado torna a remoção do molde mais desafiadora quando comparada a sistemas com interações mais simples.

A estratégia de extração utilizando acetonitrila/ácido acético (9:1) por 20 minutos atua de forma sinérgica para romper essas interações. A acetonitrila, como solvente polar aprótico, é altamente eficaz em desorganizar redes de ligações de hidrogênio, competindo com o analito por interações intermoleculares e reduzindo a estabilidade do complexo P-Asp/sacarose. O ácido acético promove a protonação parcial dos grupos carboxilato do polímero, diminuindo sua capacidade de atuar como aceitador de ligações de hidrogênio e enfraquecendo ainda mais as interações com a sacarose. Esse efeito combinado reduz a afinidade do analito pela matriz polimérica e favorece sua difusão para o meio.

A natureza altamente hidrofílica da sacarose, aliada à sua elevada solubilidade em solventes polares, contribui para a eficiência da extração. A utilização de um sistema orgânico levemente ácido evita condições extremas de pH que poderiam comprometer a integridade do filme polimérico, ao mesmo tempo em que garante a ruptura eficaz das interações multidentadas. Dessa forma, o método empregado

mostra-se adequado para sistemas dominados por ligações de hidrogênio multidentadas, como no caso de carboidratos, permitindo a geração de cavidades de reconhecimento bem definidas e acessíveis no e-MIP.

Os valores obtidos dos fatores de impressão (3,43) e de seletividade (3,02) contribuem para explicar a eficiência das cavidades e do método de extração utilizado no dispositivo. Em termos de estabilidade o mesmo sensor pode ser reutilizado cerca de 10 vezes com desvio de 4,9%, além de permanecer respondendo após 15 dias mantendo 91,3% da resposta inicial.

1.15 Perspectivas na utilização de MIPs com poliaminoácidos

Os MIPs têm se consolidado como uma das principais plataformas analíticas de reconhecimento sintético, sendo aplicados em sensores, separação, diagnóstico e liberação controlada de fármacos. Esses materiais atuam como “anticorpos artificiais”, apresentando alta seletividade e estabilidade química, os tornando atraentes para sistemas biológicos convencionais [140]. A utilização de PAAs como MIPs representa um avanço importante, promovendo o desenvolvimento de materiais mais biomiméticos, sustentáveis e versáteis.

A principal oportunidade em trabalhar com PAAs está relacionada à diversidade estrutural dos aminoácidos (grupos R), que permitem explorar diferentes tipos de interações intermoleculares, como Ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, π - π e interações hidrofóbicas. Essa variedade de compostos favorece a construção de cavidades altamente específicas e ajustáveis para diferentes analitos. Os PAAs apresentam biocompatibilidade, grande possibilidade de funcionalização e eletropolimerização controlada, características que os tornam particularmente promissores para novos e avançados sensores eletroquímicos.

Outro ponto importante envolve o desenvolvimento de novos materiais pela combinação com os MIPs. Os PAAs podem ser associados com nanomateriais (como grafeno, nanotubos ou nanopartículas metálicas), o que amplia significativamente a sensibilidade e a seletividade dessas plataformas eletroquímicas. Estratégias modernas como post-imprinting modification (PIM) também permitem funcionalizar seletivamente as cavidades após a formação da cavidade específica, o que aumenta

a afinidade e seletividade do sistema [141]. Essas abordagens indicam uma transição clara de MIPs tradicionais para sistemas mais sofisticados e biomiméticos.

Outro ponto de inovação é o estudo comparativo de diferentes técnicas de polimerização, uma vez que, a grande maioria dos trabalhos utilizam a CV. Dentro da eletroquímica a Cronoamperometria (CA) ou técnicas de potencial controlado poderiam ser explorada neste sentido, e estudos comparativos sobre técnicas de eletropolimerização poderão ser realizados. Outro ponto de grande importância é explorar a combinação de diferentes biopolímeros com AAs ou outros compostos na construção de novos dispositivos, desenvolvimento mais plataformas que utilizam copolímeros.

Apesar dos avanços experimentais, a principal limitação no desenvolvimento de MIPs ainda é entender a complexidade das interações monômero/template, que dependem das condições de síntese e dos componentes. O uso de métodos computacionais, especialmente a Teoria do Funcional da Densidade (DFT), tem se tornado essencial para prever e desvendar essas interações.

Estudos recentes destacam que ferramentas como DFT, dinâmica molecular e docking molecular permitem prever a estequiometria ideal, identificar os sítios de interação mais estáveis e estimar energias de ligação, contribuindo diretamente para o aumento da seletividade e da eficiência dos MIPs [142]. A análise das energias de interação monômero/analito possibilita identificar o monômero mais adequado para um determinado analito, diferenciar quais interações predominam (ligação de hidrogênio, eletrostática, hidrofóbica, π - π), avaliar a estabilidade do complexo pré-polimerização e otimizar proporções monômero/template (Figura 12).



Figura 12: Elucidación das interações monômero-análito em polímeros molecularmente impressos (MIPs) com base em cálculos de Teoria do Funcional da Densidade (DFT). **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Além disso, abordagens teóricas permitem reduzir significativamente o número de experimentos empíricos, acelerando o desenvolvimento de sensores mais eficientes. A integração de DFT com inteligência artificial tem sido apontada como uma das principais tendências futuras, permitindo correlacionar propriedades estruturais com desempenho analítico [142]. Portanto, o uso de DFT deixa de ser apenas uma ferramenta complementar e passa a ser um elemento central no design racional de MIPs, especialmente quando se trabalha com monômeros complexos como AAs.

Apesar do avanço significativo na área, o uso de PAAs ainda é limitado a alguns sistemas específicos, enquanto diversos aminoácidos permanecem subexplorados ou praticamente inexplorados como monômeros em MIPs. Dos 20 aminoácidos listados apenas a metade foi empregados em plataformas MIPs. Isoleucina, valina, alanina, treonina, glutamina, asparagina, triptofano, tirosina, histidina e prolina ainda permanecem sem aplicação. Essa lacuna representa uma oportunidade científica significativa, pois cada um desses aminoácidos apresenta propriedades únicas. A ausência desses sistemas na literatura sugere que o campo ainda não explorou completamente o potencial químico dos aminoácidos como blocos construtores de MIPs. Nesse sentido, o uso combinado de DFT + planejamento racional pode ser

decisivo para identificar quais desses monômeros apresentam maior afinidade com diferentes classes de analitos.

2 OBJETIVOS

2.1 Gerais

Desenvolver e investigar sensores eletroquímicos baseados em polímeros molecularmente impressos (MIPs) utilizando aminoácidos como monômeros funcionais, com ênfase no reconhecimento de macromoléculas, bem como realizar uma análise dos resultados do uso de aminoácidos na síntese de MIP, visando a construção de uma revisão especializada do conhecimento científico desta modalidade de sensores.

2.2 Específicos

- Desenvolver um sensor eletroquímico utilizando eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com óxido de grafeno reduzido (rGO) e MIP baseado em poliglicina (P-Gly) eletropolimerizada, para a determinação de monoramnolipídeo (Mono-RHL).
- Desenvolver um sensor eletroquímico utilizando eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com óxido de grafeno reduzido (rGO) e nanopartículas de ouro (AuNPs), com polileucina (P-Leu) eletropolimerizada, para determinar xilotriose (X3OS).
- Caracterizar as etapas de construção dos sensores, utilizando as técnicas microscópicas (SEM), espectroscópicas (XPS, EDS e FTIR) e eletroquímicas (CV e EIS).
- Avaliar o desempenho analítico dos sensores desenvolvidos, considerando parâmetros como sensibilidade, seletividade, repetibilidade, estabilidade e limite de detecção.
- Aplicar os sensores em amostras de reais de ramnolipídios produzidos por bioeletroquímica e amostras de xilooligossacarídeos oriundas do pseudo-caula da bananeira.
- Investigar mecanismos de interação entre os aminoácidos e os analitos, com foco nas contribuições de interações não covalentes no processo de reconhecimento molecular.

- Analisar artigos científicos sobre o uso de aminoácidos como monômeros na síntese de MIPs, explorando avanços, desafios e oportunidades no desenvolvimento de sensores eletroquímicos.
- Correlacionar as propriedades estruturais e químicas dos aminoácidos com o desempenho dos MIPs, buscando estabelecer diretrizes para a escolha racional de monômeros.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e equipamentos

Todos os reagentes utilizados neste trabalho são de grau analítico de alta pureza e estão listados na Tabela 13. Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Metrohm modelo AUTOLAB PGSTAT204 em uma célula eletroquímica de vidro (compartimento único de 15 mL) contendo três eletrodos: um eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹), um contraeletrodo de fio de platina e o eletrodo de trabalho. Soluções de trabalho dos analitos foram preparadas a partir de um reagente de grau analítico em tampão fosfato (PB) 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0, a partir do qual todas as outras soluções foram preparadas.

Tabela 13: Lista de reagentes envolvidos na quantificação do Mono-RHL e X3OS.

Nome	Fórmula química	Marca	Grau de pureza	nº CAS
Glicina	C ₂ H ₅ NO ₂	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	56-40-6
Mono-RHL	C ₂₆ H ₄₆ O ₉	Sigma-Aldrich	95,0%	869062-42-0
Etanol	C ₂ H ₆ O	Êxodo científica	99,8%	869062-42-0
Sulfato de sódio	Na ₂ SO ₄	Synth	99,0%	7757-82-6
Fosfato de sódio bibásico	Na ₂ HPO ₄	Êxodo científica	99,0%	7558-79-4
Fosfato de sódio mono básico	NaH ₂ PO ₄	Synth	98,0 – 102,0%	7558-80-7
Óxido de grafeno	C _x O _y H _z	Sigma-Aldrich	---	---
Cloreto de potássio	KCl	Neon	99,7%	7447-40-7
Ferricianeto de potássio	K ₃ [Fe(CN) ₆]	QHEMIS	99,0%	13746-66-2
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	Sigma-Aldrich	95,0 – 98,0%	7664-93-9
Ácido 3-hidroxidecanóico	C ₁₀ H ₂₀ O ₃	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%	5561-87-5
Ácido Oleico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	112-80-1
Di-ramnolipídio	C ₃₂ H ₅₆ O ₉	Sigma-Aldrich	95,0%	869062-42-0
Ácido linoleico	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	60-33-3
Ácido palmítico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	57-10-3
Ácido esteárico	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	57-11-4
Ramnose monohidratada	C ₆ H ₁₄ O ₆	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	10030-85-0
Nitrato de sódio	NaNO ₃	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	7631-99-4
Sulfato de magnésio	MgSO ₄	Sigma-Aldrich	≥ 99,5%	7487-88-9
Fosfato de potássio bibásico	K ₂ HPO ₄	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%	7758-11-4
Leucina	C ₆ H ₁₃ NO ₂	Sigma-Aldrich	≥ 98,0%	61-90-5
Xilotriose	C ₁₅ H ₂₆ NO ₁₃	Cayman	≥ 95,0%	47592-59-6
ácido cloroáurico	HAuCl ₄ · aq	Sigma-Aldrich	99,9%	27988-77-8
Glicose	C ₆ H ₁₂ O ₆	Sigma-Aldrich	≥ 99,5%	50-99-7
Frutose	C ₆ H ₁₂ O ₆	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	57-48-7
Arabinose	C ₅ H ₁₀ O ₅	Millipore	99,0%	87-72-9
Xilobiose	C ₁₀ H ₁₈ O ₉	Sigma-Aldrich	≥ 90,0%	6860-47-5
Xilose	C ₅ H ₁₀ O ₅	Sigma-Aldrich	≥ 99,0%	58-86-6

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Para as análises de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), foram utilizados um potenciostato/galvanostato com módulo de FRA (Metrohm modelo AUTOLAB PGSTAT204), em solução de ferricianeto/ferrocianeto de potássio $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, com faixa de frequência de $1,0 \times 10^5 \text{ Hz}$ a $0,1 \text{ Hz}$ com 10 pontos por década, amplitude de sinal senoidal de $0,01 \text{ V}$, fixando o potencial específico de cada estudo obtidos pelas medidas de CV.

Para ajustar o pH das soluções, foi utilizado um medidor de pH Bel Engineering modelo W3B. Um ultrassom Eco-sonics modelo Q3.0/25 A foi usado para preparar a suspensão de rGO. Na metodologia experimental, utilizou-se água ultrapura obtida por meio do sistema Milli-Q, a qual apresenta elevada resistividade ($\approx 18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$) a 25°C e baixos teores de contaminantes orgânicos, inorgânicos e microbiológicos.

Para análise de infravermelho, foi utilizado um microscópio Hyperion 2000 BRUKER com detector MCT na faixa de 400 a 1000 cm^{-1} em cristal de germânio ATR. Para análise de microscopia eletrônica de varredura, foi utilizado um equipamento JEOL modelo JSM-IT500HR. A análise XPS foi realizada utilizando um espectrômetro comercial UNI-SPECS UHV System com pressão inferior a $5 \times 10^{-7} \text{ Pa}$. A linha Mg K α ($h\nu = 1254,6 \text{ eV}$) foi utilizada como fonte de ionização e a energia de passagem do analisador foi ajustada para 10 eV . O ruído inelástico dos espectros de alta resolução de C 1s, O 1s e N 1s 2p foi subtraído utilizando o método de Shirley. Os espectros foram deconvoluídos utilizando uma função do tipo Voigtiana com combinações Gaussiana (70%) e Lorentziana (30%). A largura à meia altura variou entre $1,3$ e $2,1 \text{ eV}$, e as posições dos picos foram determinadas com uma precisão de $\pm 0,1 \text{ eV}$.

3.2 Limpeza da superfície do GCE

O eletrodo de carbono vítreo (*Glassy Carbon Electrode* - GCE) foi submetido a um processo de limpeza manual seguindo metodologia previamente descrita na literatura [143]. Inicialmente, o GCE foi polido mecanicamente utilizando suspensão de H_2O e pó de alumina com granulometria de $0,30 \mu\text{m}$ sobre um tecido de poliéster. Em seguida, foi realizada a ativação eletroquímica por meio de varreduras sucessivas utilizando CV em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Por fim, após a conclusão de todas essas etapas, a sonda eletroquímica de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ foi empregada, sendo o perfil obtido, apresentado na Figura 13, adotado como referência de uma superfície adequadamente limpa [144], onde temos $(I_{pa}/I_{pc}) = 1,04$ e $(E_{pa}-E_{pc}) = 87,73 \text{ mV}$,

onde os valores ideais são de $(I_{pa}/I_{pc}) = 1$ e $(E_{pa}-E_{pc}) = 59,0$ mV a 25°C. Dessa forma, o protocolo adotado assegurou condições adequadas de limpeza para obtenção de resposta analíticas consistentes e reprodutíveis. Essa diferença de ΔE_p pode ocorrer por alguns motivos: i) leve resistência não compensada da solução; ii) pequena heterogeneidade da superfície do eletrodo; iii) limpeza boa, mas não perfeita, possível adsorção residual muito discreta; iv) influência da velocidade de varredura usada na CV [40].

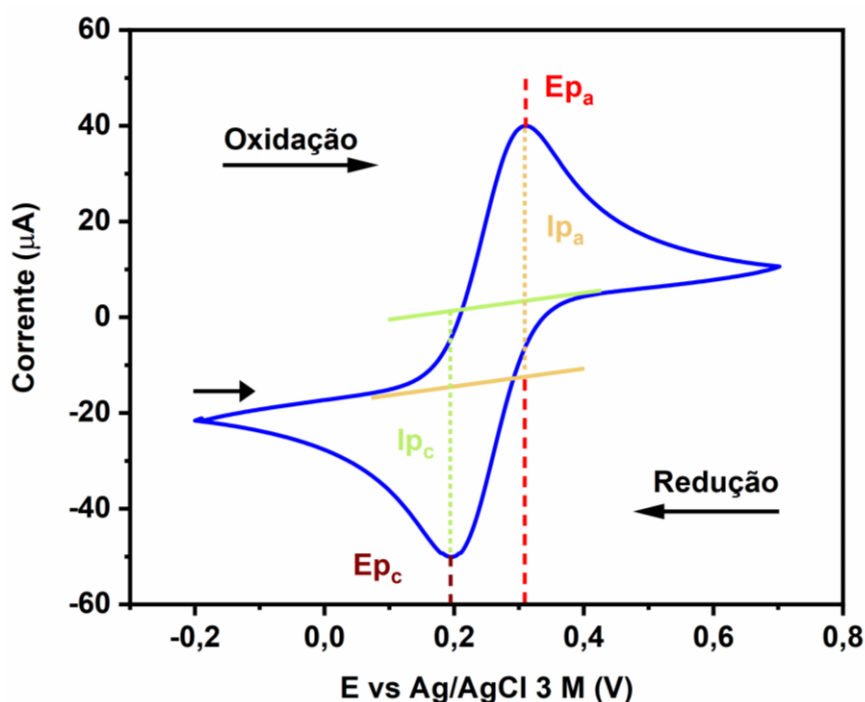


Figura 13: Perfil voltamétrico obtido após limpeza do GCE, utilizado como referência. $\nu = 100$ mV s⁻¹; [KCl] = 0,5 mol L⁻¹; [K₃[Fe(CN)₆]] = 5,0 × 10⁻³ mol L⁻¹. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

3.3 Preparo e eletrodeposição do rGO

Para formar um filme de rGO foi seguido uma metodologia otimizada [145], na qual, uma mistura de 2,5 mL de óxido de grafeno (*Graphene Oxide* - GO) a 4 mg/mL e 10 mL de H₂O ultrapura foi previamente preparada e submetida a um banho ultrassônico por 4h. Em seguida, utilizando o GO sonicado, uma suspensão com Na₂SO₄ 0,2 mol L⁻¹ em uma proporção de 1:1 foi preparada (GO/Na₂SO₄). Posteriormente, com base em outras pesquisas [145,146], o rGO foi eletrodepositado usando a suspensão GO/Na₂SO₄, aplicando um potencial de -1,4 V por 500s para a

redução e formação da camada de rGO na superfície do eletrodo (GCE/rGO), deixando o eletrodo secar à temperatura ambiente. A escolha do potencial foi baseada no pico de redução observado na voltametria cíclica da Figura 14.

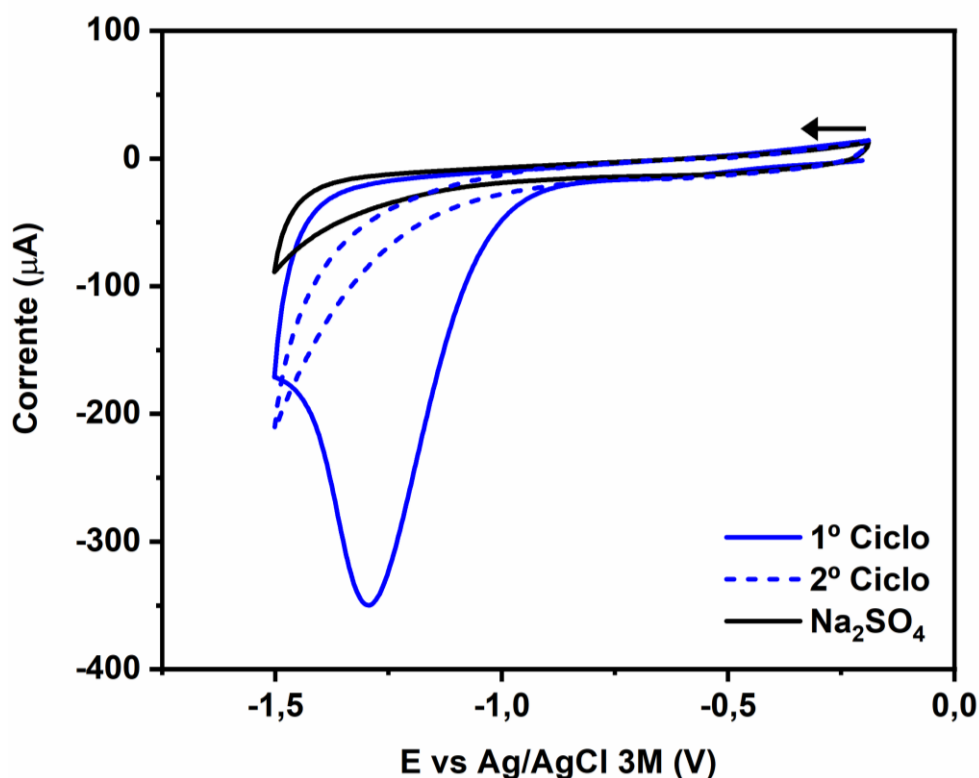


Figura 14: Voltamograma cíclico para GCE na presença de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de Na_2SO_4 e $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ de GO. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

3.4 Construção do sensor GCE/rGO@Poli(Gli)

Para obtenção do filme e-MIP de poliglicina (P-Gly), foi realizada uma eletropolimerização (adaptada da literatura [147]) por CV na faixa de potencial de $-0,8$ a $1,9 \text{ V}$, a partir de uma solução contendo $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de glicina (Gly) e $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Monoramnolipideo (Mono-RHL) em tampão fosfato (*Phosphate Buffer* – PB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 5,9. O sensor foi imerso em uma solução hidroalcoólica de $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ (proporção 9:1) sob agitação para remover o Mono-RHL e formar cavidades específicas (GCE/rGO@Poli(Gli)). Nesta etapa de formação do e-MIP, alguns parâmetros que influenciam as propriedades do filme foram otimizados, sendo a concentração de Mono-RHL, o número de ciclos de eletropolimerização, os tempos de extração, religação e o pH de religação descritos na Tabela 14. Para fins de

comparação, um eletrodo de polímero molecularmente não impresso (*Molecularly Non-printed Polymer* - NIP) foi fabricado sob as mesmas condições experimentais.

Tabela 14: Parâmetros e valores otimizados no desenvolvimento do filme para o sensor Mono-RHL.

Parâmetros	Intervalo estudado	Valor ótimo
Número de ciclos	3 - 15	9
Concentração de RHL ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,1 - 10	1
Tempo de extração (min)	1 - 10	2,5
Tempo de religação (min)	2,5 - 15	10
pH de religação	5 - 9	7

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

3.5 Obtenção das nanopartículas de ouro

Para a obtenção das nanopartículas de ouro (AuNPs), utilizadas no sensor para xilotriose (X3OS), o eletrodo GCE/rGO foi imerso em uma solução contendo $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de HAuCl_4 preparada em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, para a eletrodeposição de AuNPs sobre sua superfície obtendo o GCE/rGO/Au. O processo foi realizado por cronoamperometria (*Chronoamperometry* – CA), pela aplicação de um potencial constante de +0,70 V até que a carga de $1,0 \times 10^{-3} \text{ C}$ fosse atingida, conforme descrito na literatura [148].

3.6 Construção do sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP

A obtenção do filme e-MIP, foi realizada por CV no intervalo de potencial de -0,5 até 2,0 V (estudado na seção 3.16), na superfície GCE/rGO/Au a partir de uma solução contendo $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Leucina (L-Leu) e $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Xilotriose (X3OS) em tampão PB $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 6. O sensor foi imerso em EtOH sob agitação para remover o X3OS e formar cavidades específicas (GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP). Nesta etapa de formação do e-MIP, alguns parâmetros que influenciam as propriedades do filme foram otimizados, sendo a concentração de X3OS, o número de ciclos de eletropolimerização, os tempos de extração/religação descritos na Tabela 15. Para fins de comparação, um eletrodo NIP foi fabricado sob as mesmas condições experimentais.

Tabela 15: Parâmetros e valores otimizados no desenvolvimento do filme para o sensor X3OS.

Parâmetros	Intervalo estudado	Valor ótimo
Número de ciclos	1 - 9	5
Concentração de L-Leu (μM)	10 - 90	50
Tempo de extração (min)	5 - 15	10
Tempo de religação (min)	5 - 15	10

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

3.7 Método de detecção

Devido à ausência de processos redox nas condições dos estudos, uma sonda eletroquímica de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ($5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e CV na faixa de potencial de $-0,2$ a $0,7 \text{ V}$ foi usada para a detecção de Mono-RHL e X3OS. Para monitorar a resposta do sensor, foi utilizado o cálculo da variação de corrente de pico (ΔI_p) após as etapas de extração e religação utilizando a DPV (Figura 15), de acordo com a equação 1.

$$\Delta I_p = I_{p_{\text{extração}}} - I_{p_{\text{religação}}} \quad \text{Equação (1)}$$

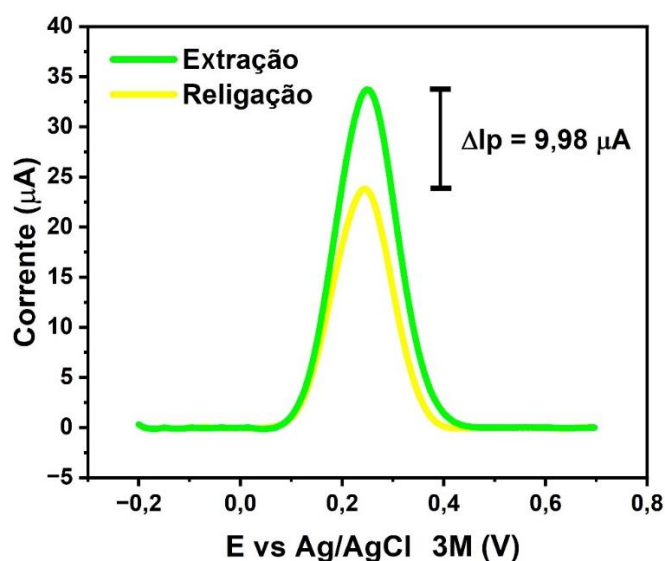


Figura 15: DPVs para os processos de extração (verde) e religação (amarelo) mostrando a variação de corrente entre os processos. $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $[\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

3.8 Construção das curvas analíticas

A DPV foi utilizada como técnica eletroanalítica após a construção e otimização dos sensores. As curvas analíticas foram obtidas preparando-se soluções na faixa de concentração de $5,0 \times 10^{-14}$ a $1,0 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹ (para a curva do Mono-RHL), e na faixa de $0,5 \times 10^{-14}$ a $9,0 \times 10^{-14}$ mol L⁻¹ (para a curva do X3OS), obtidas a partir de uma solução estoque em tampão PB 0,2 mol L⁻¹ a pH 7,0. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados de acordo com as recomendações da União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry* - IUPAC) [149], utilizando as equações 2 e 3.

$$LD = \frac{3,3 \times SD}{S} \quad \text{Equação (2)}$$

$$LQ = \frac{10,0 \times SD}{S} \quad \text{Equação (3)}$$

Nessas equações, S representa a inclinação da curva (sensibilidade amperométrica) analítica e SD o desvio padrão do intercepto da curva analítica. Três repetições, $n = 3$, foram utilizadas para determinar os valores de S e SD .

3.9 Amostra de ramnolipídios

A amostra foi obtida utilizando um sistema bioeletroquímico aplicando um potencial de +0,3 V, utilizando *Pseudomonas aeruginosa* como microrganismo. Esta bactéria é conhecida na literatura por produzir ramnolipídios [150–152]. As medições foram realizadas em um meio sintético contendo uma mistura de ácidos graxos. À célula bioeletroquímica, foram adicionados 100 mL desta mistura eletrolítica juntamente com concentrações conhecidas de ácidos linoleico, oleico, palmítico e esteárico (8 g L^{-1}), 1,5 mL de suspensão do microrganismo na faixa de 1×10^8 UFC/mL e 1 mL de solução de oligoelementos (como ferro, cobre, zinco, magnésio e fósforo). A reação de bioeletrossíntese foi realizada aplicando-se um potencial (+0,3 V) durante um período de 24 h.

A célula bioeletroquímica de vidro utilizada possui uma capacidade de 300 mL e consiste em dois compartimentos cilíndricos concêntricos com um sistema de resfriamento externo para controle de temperatura. Um eletrodo de fibra de carbono ($3 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$) foi utilizado como eletrodo de trabalho, enquanto um eletrodo de

Ag/AgCl 3 mol L⁻¹ usado como eletrodo de referência. No compartimento do cátodo, o eletrodo auxiliar consiste em uma placa de Ânodo Dimensionalmente Estável (*Dimensionally Stable Anode* - DSA) com área de 25 cm². A composição dos elementos presentes na célula bioeletroquímica foi a seguinte: óleo vegetal de sementes de goiaba, como fonte de carbono (uma mistura de óleos); solução de oligoelementos; K₂HPO₄, MgSO₄, KCl e NaNO₃ como eletrólito; suspensão de *Pseudomonas aeruginosa* previamente preparada no inóculo.

3.10 Amostra de xilooligossacarídeos

A xilana foi solubilizada do pseudocaule da bananeira de acordo com o método que utiliza peróxido de hidrogênio em meio alcalino [153], e submetido à hidrólise enzimática. Esse processo foi realizado em frascos contendo 5 mL de tampão fosfato de sódio 0,05 mol/L (pH 6), mantidos a 55°C sob agitação a 150 rpm. A reação utilizou endoxilanase previamente purificada de *Aspergillus versicolor* [7]. A hidrólise foi realizada utilizando uma concentração de hemicelulose de 2% e uma carga enzimática de 50 U/g durante um período de 24h. Para interromper a reação, os frascos foram colocados em água fervente por 5min. Posteriormente, a mistura reacional foi centrifugada a 5000 rpm por 10min e filtrada através de um filtro de seringa de 0,22 µm. Para quantificar os XOS, as amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (*High-Performance Liquid Chromatography* - HPLC) utilizando um sistema WATERS equipado com uma coluna Aminex HPX-87C (Bio-Rad, 300 × 7,8 mm). A coluna foi operada a 80 °C, com água ultrapura como fase móvel a uma vazão de 0,6 mL min⁻¹. Foi utilizado um volume de injeção de 20 µL e a detecção foi realizada com um detector de índice de refração (Waters 2414). As curvas de calibração foram preparadas utilizando soluções padrão em várias concentrações de xilose, xilobiose (X2OS), xilotriose (X3OS), xilotetraose (X4OS), xilopentose (X5OS) e xilohexaose (X6OS), seguindo a metodologia descrita por Freitas et al. (2021) [7].

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sensor eletroquímico com impressão molecular baseado em glicina eletropolimerizada sob óxido de grafeno reduzido para determinação de monoramnolipídios.

Uma das classes de compostos com ampla gama de aplicações nas mais diversas áreas são os surfactantes, devido ao seu tipo de estrutura que contém regiões polares (hidrofílicas) e apolares (hidrofóbicas), também conhecidas como cabeça e cauda, respectivamente [154]. Devido à sua característica de formar emulsões, espumas e suspensões, são comumente utilizados em formulações agrícolas e cosméticas [155]. Além disso, atuam como protetores contra corrosão [156], são aplicados em supercapacitores [157,158], reduzem efetivamente a tensão superficial e interfacial [155], entre outras propriedades. Quanto à sua produção, pode ser realizada quimicamente, sendo necessário o uso de muitos reagentes prejudiciais ao meio ambiente. Uma alternativa viável, que já vem sendo amplamente aplicada, é a conversão de fontes de carbono, principalmente resíduos agroindustriais, por meio de biotransformação por microrganismos como bactérias, fungos e leveduras, gerando produtos denominados biossurfactantes [159].

Entre as classes de biossurfactantes, os RHLs são glicolipídios produzidos por diferentes tipos de microrganismos, sendo a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* a espécie mais utilizada [160,161]. Uma das propriedades dos RHLs de baixo peso molecular é a capacidade de reduzir eficazmente a tensão superficial e interfacial; os RHLs de alto peso molecular são mais eficazes como estabilizadores de emulsões [155]. O composto Mono-RHL, especificamente, é um dos principais produtos com maior produção (Figura 16) [162]. Possui diversas aplicações, incluindo seu uso como biossurfactante, biorremediação de poluentes (petróleo), biodegradação de hidrocarbonetos, mobilidade e redução da toxicidade de metais, e inibição da atividade biocida, o que o torna um composto de grande interesse em novos estudos [163].

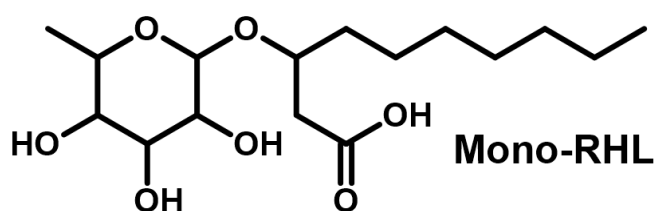


Figura 16: Estrutura molecular do Mono-RHL. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Em relação à quantificação, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (*Liquid Chromatography with Mass Spectrometry* – GC/MS) é a principal técnica utilizada para a quantificação de RHLs devido à sua alta sensibilidade [164–167]. Em uma revisão sobre análise de biossurfactantes, outras técnicas são listadas para a quantificação desses compostos, incluindo métodos colorimétricos e cromatográficos [168]. Outras técnicas podem ser utilizadas para obter maior praticidade e rapidez de análise, como as técnicas eletroanalíticas que utilizam sensores eletroquímicos modificados, os quais apresentam características como alta sensibilidade, pouco ou nenhum tratamento da amostra e possibilidade de portabilidade, além de um tempo de produção curto e moderado, sendo aplicadas na determinação dos mais diversos compostos [38,169]. Estudos utilizando sensores eletroquímicos para a quantificação específica de Mono-RHL ainda não foram explorados. Até o momento, existe apenas um sensor eletroquímico baseado em GCE com eletrodeposição de rGO e AuNPs utilizando L-Serina (L-Ser) para impressão molecular para ácido 3-hidroxidecanóico, que determina a classe de RHLs indiscriminadamente, utilizando método de clivagem [96]. Em contraste, o objetivo deste trabalho é a determinação seletiva de Mono-RHL em sua forma integral, o que representa um avanço significativo, visto que este é o primeiro sensor descrito para a quantificação seletiva de Mono-RHL. Este sensor é capaz de diferenciar Mono-RHL de Diramnofilípico (Di-RHL), os dois principais compostos da classe RHL. Outro ponto relevante e inovador desta pesquisa é a construção de um sensor eletroquímico do tipo polímero MIP para uma macromolécula como o Mono-RHL, o que representa um desafio considerável devido ao tamanho das cavidades formadas durante o processo de impressão molecular.

A P-Gly possui as seguintes propriedades: capacidade de formar filmes poliméricos (principalmente por eletropolimerização); interações eletrostáticas seletivas (por grupos funcionais laterais); compatibilidade com nanomateriais e materiais carbonáceos; Estabilidade e reprodutibilidade de filmes poliméricos; Facilidade de preparação e custo-benefício [147,170,171]. Assim, o foco foi o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a determinação seletiva de Mono-RHL, utilizando impressão molecular de P-Gly produzida eletroquimicamente sob

filmes de rGO. Além disso, mantendo alta sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade e baixo custo de produção, podendo o sensor ser aplicado nas mais diversas amostras de Mono-RHL, como em amostras de sistemas bioeletroquímicos.

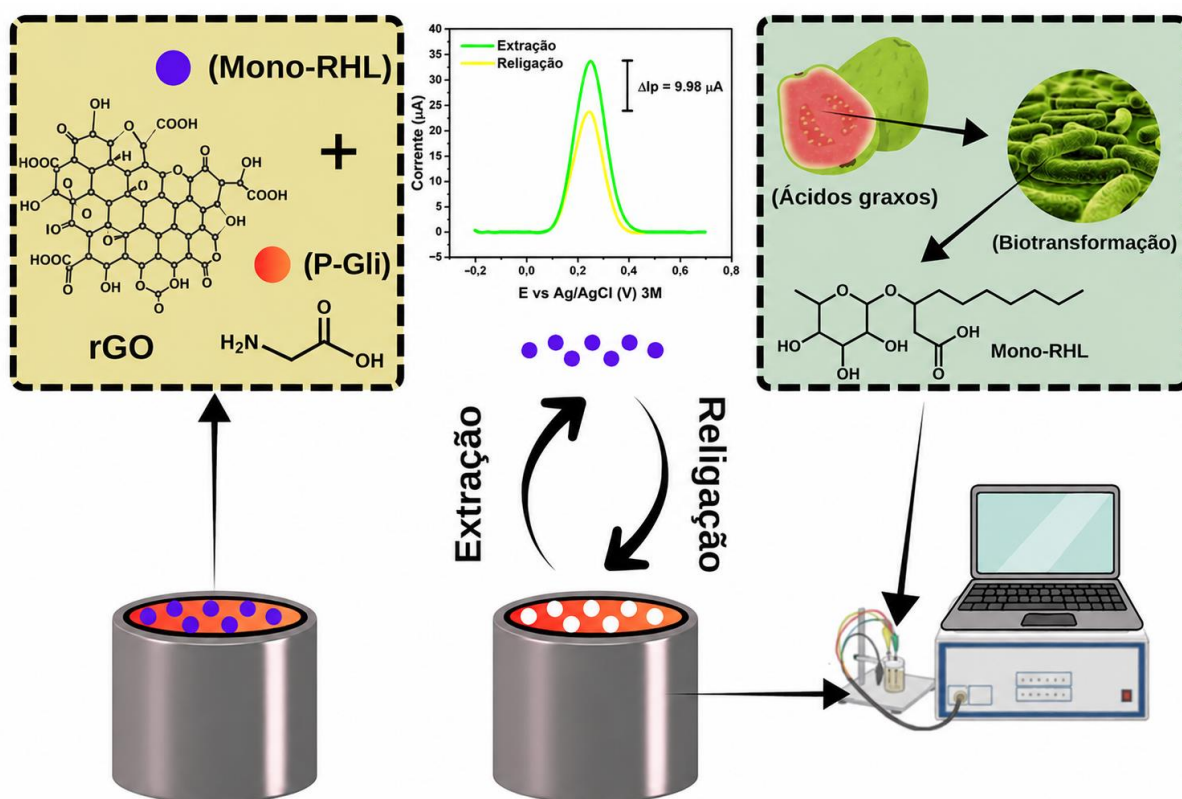


Gráfico 2: Sensor molecularmente impresso a base de poliglicina e rGO para a quantificação de Mono-RHL. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.2 Comportamento eletroquímico do Mono-RHL

Estudos sobre o comportamento eletroquímico do Mono-RHL foram realizados utilizando CV em duas faixas de potencial ($-1 - 0$ V; $0 - 1,9$ V) em GCE e são mostrados na Figura 17. O eletrólito suporte utilizado foi PB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 7, a velocidade de varredura foi de 100 mV s^{-1} , purgando $\text{N}_{2(g)}$ por 15min. Analisando os resultados, podemos verificar que não há picos faradáicos relacionados aos processos redox do Mono-RHL, apresentando apenas processos capacitivos. Outro fenômeno observado na Figura 17 é a diferença no potencial de oxidação da H_2O ($\sim 1,75$ V), que se desloca ligeiramente para potenciais mais positivos na presença do Mono-RHL. Uma hipótese para entender esse fenômeno, tem como base a estrutura do Mono-RHL, como surfactante, pode adsorver-se na superfície do eletrodo. Isso

pode causar alterações na corrente dos processos envolvidos (oxidação da H_2O). Dois efeitos principais podem ser listados como: uma mudança na energia de ativação da reação de oxidação da água, dificultando a transferência de elétrons; e uma mudança na estrutura da dupla camada elétrica, que influencia a densidade de carga interfacial. Na literatura, surfactantes são amplamente utilizados para alterar propriedades como a taxa de reação e o deslocamento de potencial [172,173]. Como o Mono-RHL não apresentou picos redox, a determinação do composto não pode ser feita diretamente, sendo necessária outra abordagem. Neste contexto, foi utilizada uma sonda eletroquímica, o ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) na concentração de $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

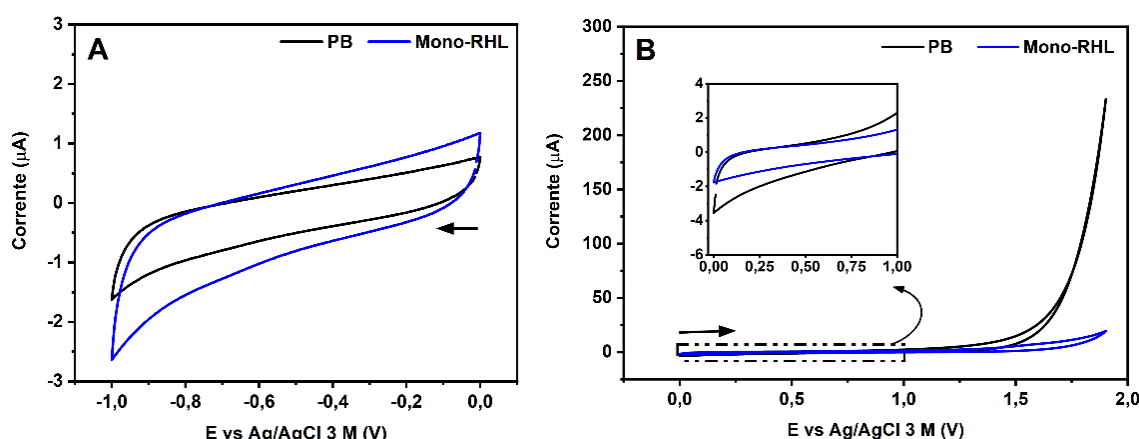


Figura 17: Comportamento eletroquímico do Mono-RHL em GCE. A) e B) CVs para as regiões catódica e anódica do GCE, respectivamente. $[\text{Mono-RHL}] = 0,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{PB}] = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7; 100 mV s^{-1} ; $\text{N}_2(\text{g})$ por 15 min. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.3 Eletropolimerização

Os processos eletroquímicos envolvidos na etapa de eletropolimerização na superfície GCE/rGO foram investigados por meio de diferentes estudos utilizando voltametria cíclica (CV) (Figura 18). Na Figura 18A, dois picos foram observados, um de oxidação e outro de redução em aproximadamente 1,5 e -0,5 V, respectivamente, que ocorrem somente após a adição de rGO. Isso indica oxidação e redução de espécies presentes no rGO, com os dois picos estando diretamente relacionados, como podemos ver na Figura 18B, onde o pico de redução aparece somente após a formação do produto oxidado em aproximadamente 1,75 V. Outra informação extraída

da Figura 18A é o aumento da corrente de pico na presença de Gly. Uma variação da velocidade de varredura de 25 – 200 mV s^{-1} foi explorada na Figura 18C, onde há um aumento na corrente de pico até uma velocidade de 100 mV s^{-1} , que é, portanto, a velocidade ideal para as reações envolvidas no processo. Finalmente, na Figura 18D, temos o perfil final de eletropolimerização na presença de Mono-RHL, onde podemos observar uma diminuição na corrente de pico a cada novo ciclo. Isso ocorre devido à formação do filme polimérico impresso que cobre a superfície a cada novo ciclo.

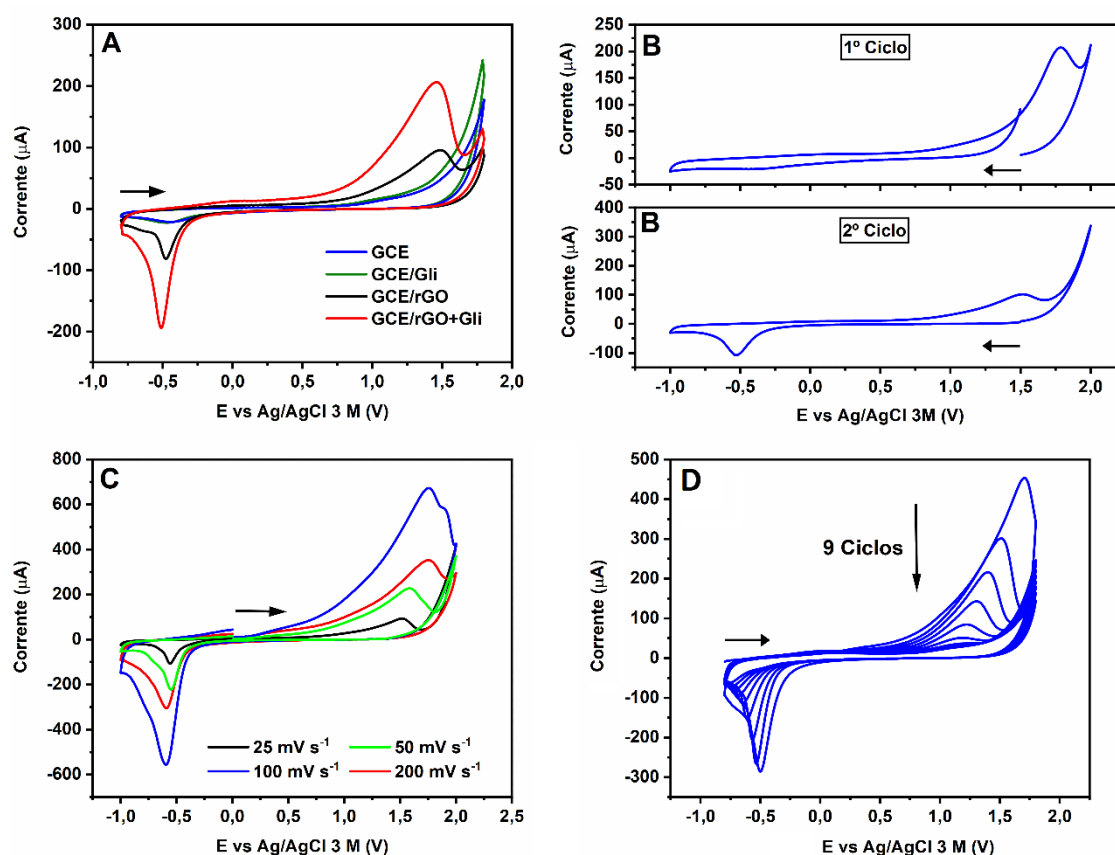


Figura 18: Estudo da eletropolimerização de glicina. A) CVs a 50 mV s^{-1} para as superfícies GCE, GCE/rGO, GCE/Gli e GCE/rGO+Gli. B) CVs do Primeiro e segundo ciclo em GCE/rGO; 50 mV s^{-1} . C) Diferentes velocidades de varredura em GCE/rGO+Gli. D) CVs do perfil final de eletropolimerização de Gly na presença de Mono-RHL. $[\text{Gly}] = 10 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ $[\text{PB}] = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Um esquema mecanístico foi elaborado com base nas informações da Figura 18 e em dados disponíveis na literatura, e está esquematizado na Figura 19. Inicialmente, ocorre a formação de radicais amino ($\cdot\text{NH}$) pela aplicação do potencial

elétrico na célula eletroquímica por CV (-0,8 a 1,9 V), que para a glicina é de aproximadamente 1,8 V [174,175]. Em seguida, esses radicais formados atacam outras moléculas de glicina que possuem um bom grupo de saída (H_2O^+) devido ao pH 7 do meio, visto que o ponto isoelétrico (pI) da Gly é 5,9, calculado pelos seus dois valores de pKa, 2,34 e 9,60, iniciando o processo de polimerização [176]. Isso se repete até o final da aplicação do potencial elétrico, resultando na formação do filme polimérico de Gly e Mono-RHL.

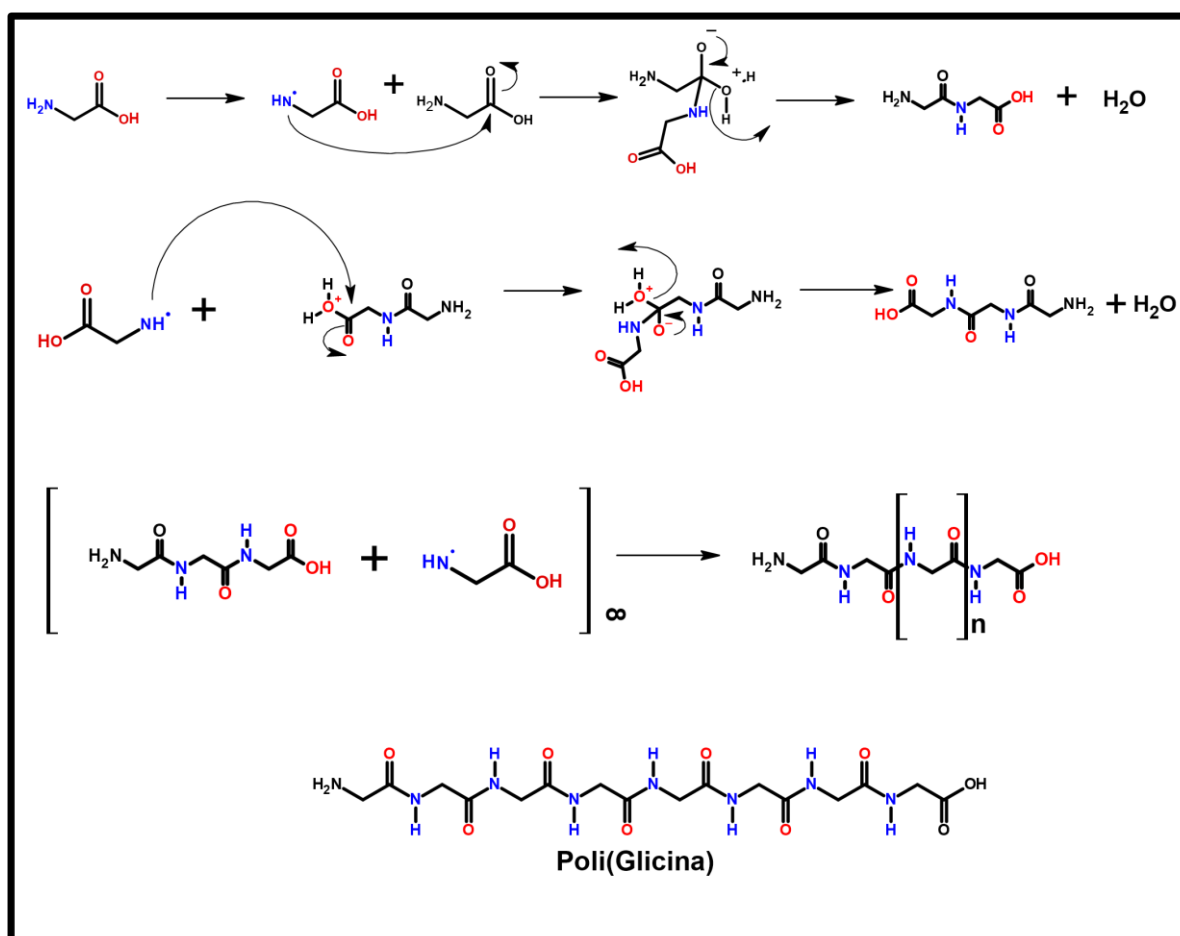


Figura 19: Esquema do mecanismo de polimerização da glicina. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.4 Caracterização microscópica do GCE/rGO@poli(Gli)

A morfologia de cada etapa de modificação do sensor foi investigada por meio de microscopia eletrônica de varredura (*Scanning Electron Microscopy* – SEM). As imagens foram ampliadas em 25.000 vezes com a aplicação de energia de 5 kV, juntamente com análise de espectroscopia de raios X por dispersão de energia

(*Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* – EDS) (Figura 20). A Figura 20A mostra a superfície do GCE após a limpeza, demonstrando que não há modificações ou impurezas, apenas a presença de C. A Figura 20B mostra as folhas de rGO no GCE, demonstrando que a eletrorredução do GO ocorreu para formar o GCE/rGO, confirmada pelo aparecimento do pico de O no gráfico EDS. A Figura 20C mostra a formação do filme polimérico eletrossintetizado de Gly na presença de Mono-RHL (GCE/rGO@MIP). A Figura 20D mostra a morfologia do filme NIP e do controle, e mostra as folhas de rGO (GCE/rGO@NIP). O pico de nitrogênio não aparece no gráfico devido à baixa proporção de átomos de N em relação à O e C, e não foi detectado pela técnica EDS. Através das morfologias apresentadas, algumas diferenças foram encontradas que concordam com as etapas de formação do sensor.

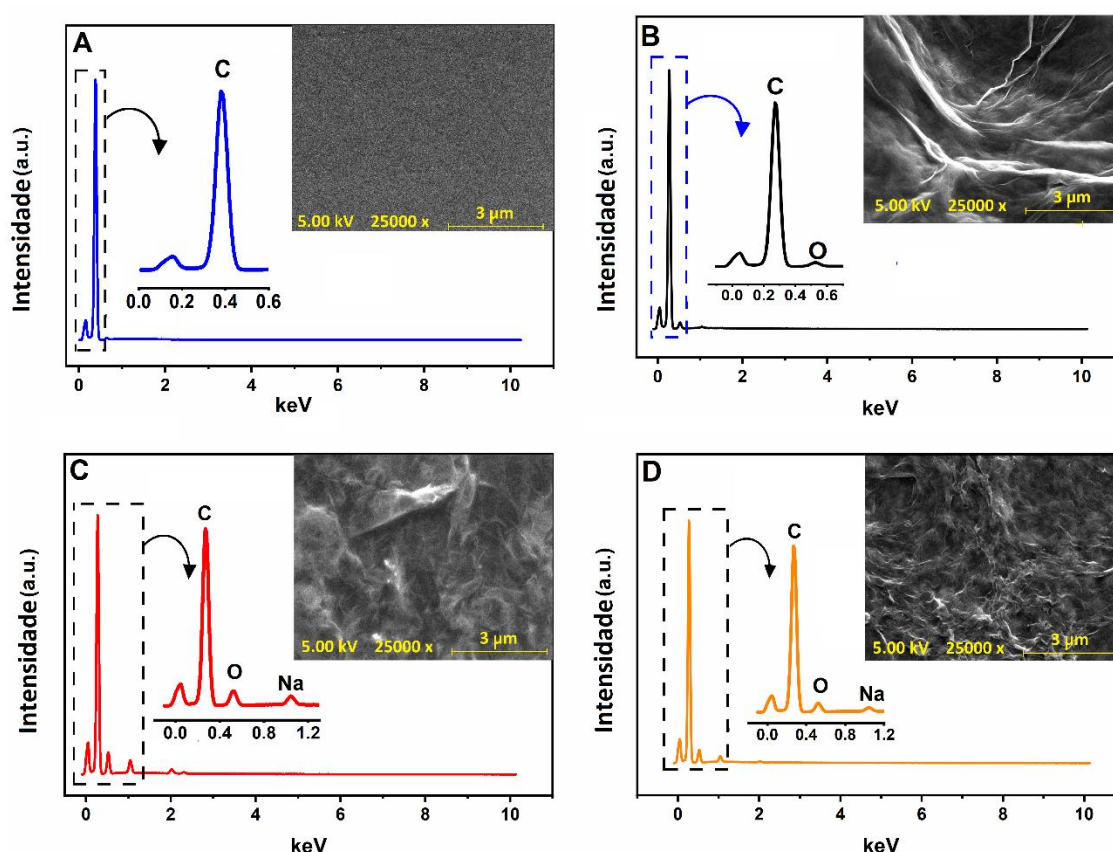


Figura 20: Análises MEV e EDS para A) GCE. B) GCE/rGO. C) GCE/rGO@MIP. D) GCE/rGO@NIP. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Os picos EDS relacionados ao Na são resíduos do Na_2SO_4 utilizado na preparação da suspensão de GO. Folhas de rGO bem definidas podem ser

visualizadas em todas as imagens, exceto na do GCE limpo. A opacidade nas superfícies de GCE/rGO@MIP e GCE/rGO@NIP indica a formação de camadas sobrepostas às folhas de rGO previamente eletrodepositadas.

4.5 Caracterização espectroscópica

4.5.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy* – FTIR) foram realizadas na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} , observando-se os valores de transmitância gerados. O espectro do GCE foi utilizado como comparação, sendo subtraído do outro espectro, facilitando a identificação das principais diferenças encontradas entre as camadas de rGO, MIP e NIP, conforme mostrado na Figura 21 e na Tabela 16. O estiramento da ligação observado em 1060 cm^{-1} refere-se à vibração simétrica C–C–N (Figura 21C), a banda observada entre 1610 e 1750 cm^{-1} é uma deformação assimétrica relacionada à vibração N–H (Figura 21D) e o pico em 680 cm^{-1} refere-se ao íon carboxilato (Figura 21B). Outra banda de vibração foi verificada em 1460 – 1580 cm^{-1} , referente a C–H assimétrico e C – O simétrico (Figura 21D). Essas vibrações foram observadas apenas para GCE/rGO@MIP e GCE/rGO@NIP, pois se referem à presença do poliaminoácido, o que corrobora a confirmação da presença de glicina no filme polimérico e-MIP formado [177,178]. Os picos em 2340 e 2360 cm^{-1} referem-se ao CO_2 atmosférico, que são causados pela própria análise e são coletados em todos os espectros.

Tabela 16: Picos e bandas encontrados no espectro FTIR.

λ (cm^{-1})	Bandas
670	Carboxilato
1060	C-C-N _{sim.}
1460 - 1580	(CH _{flexão} assim. + C-O _{sim.}) def.
1610 - 1750	N-H _{assim.}
2340	CO ₂
2360	CO ₂

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

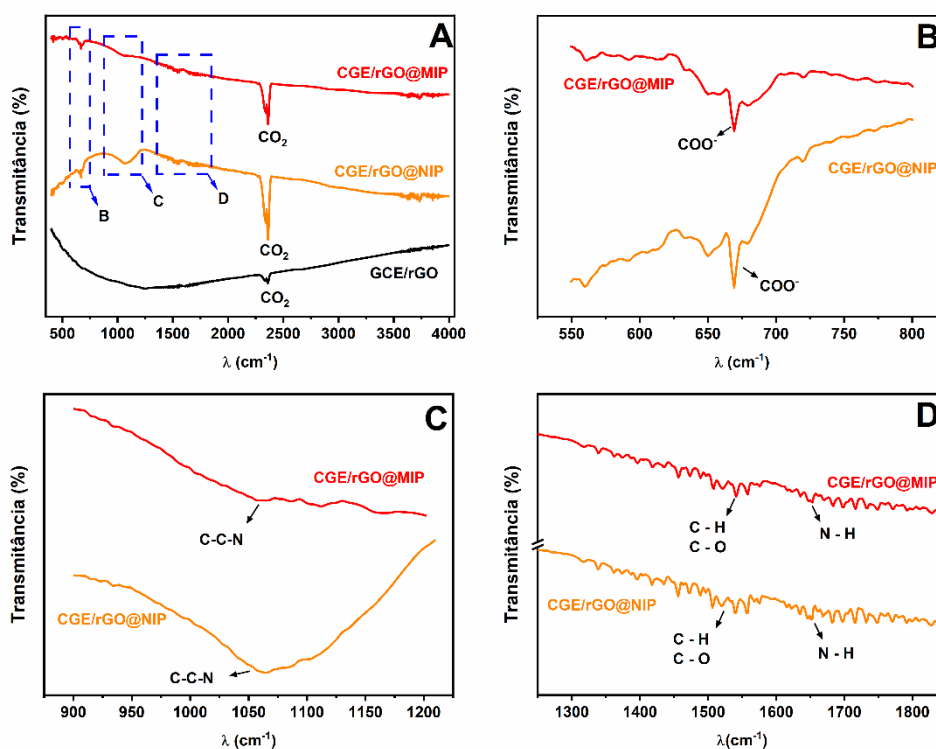


Figura 21: Análises FTIR para A) GCE/rGO; GCE/rGO@MIP e GCE/rGO@NIP. B) Primeira ampliação da região marcada em A. C) Segunda ampliação da região marcada em A. D) Terceira ampliação da região marcada em A. das modificações do sensor rGO, MIP e NIP. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.5.2 Espectroscopia de fotoelétrons excitado por raios X

A Espectrômetro de fotoelétrons excitado por raios X (X-ray Photoelectron Spectrometer – XPS) analisou o sensor para determinar a composição estrutural presente na superfície. A Figura 22 mostra os espectros deconvoluídos de alta resolução para as espécies de Carbono (C 1s), Oxigênio (O 1s) e Nitrogênio (N 1s) envolvidas nas etapas de modificação do sensor. Grupos de carbono aromáticos C-C sp^2 foram ajustados em 284,4 eV. Além disso, foram identificados grupos C-N (285,6 eV), C-O (286,5 eV), C=O (287,7 eV) e O=C=O (288,9 eV). Na alta energia de ligação, observam-se componentes do espectro Auger NaKLL [179]. Os espectros de oxigênio foram ajustados com três componentes: os grupos O=C em 531,5 eV, os grupos O-C em 532,6 eV e O=O=C em 533,7 eV [180]. Os espectros de nitrogênio foram ajustados com dois componentes: um em 398 eV, proveniente da piridina, e outro em torno de 400 eV, proveniente de grupos alifáticos com ligações simples N-C, incluindo aminas [181]. A análise XPS confirma a modificação bem-sucedida da superfície do eletrodo com rGO e o filme de P-Gly.

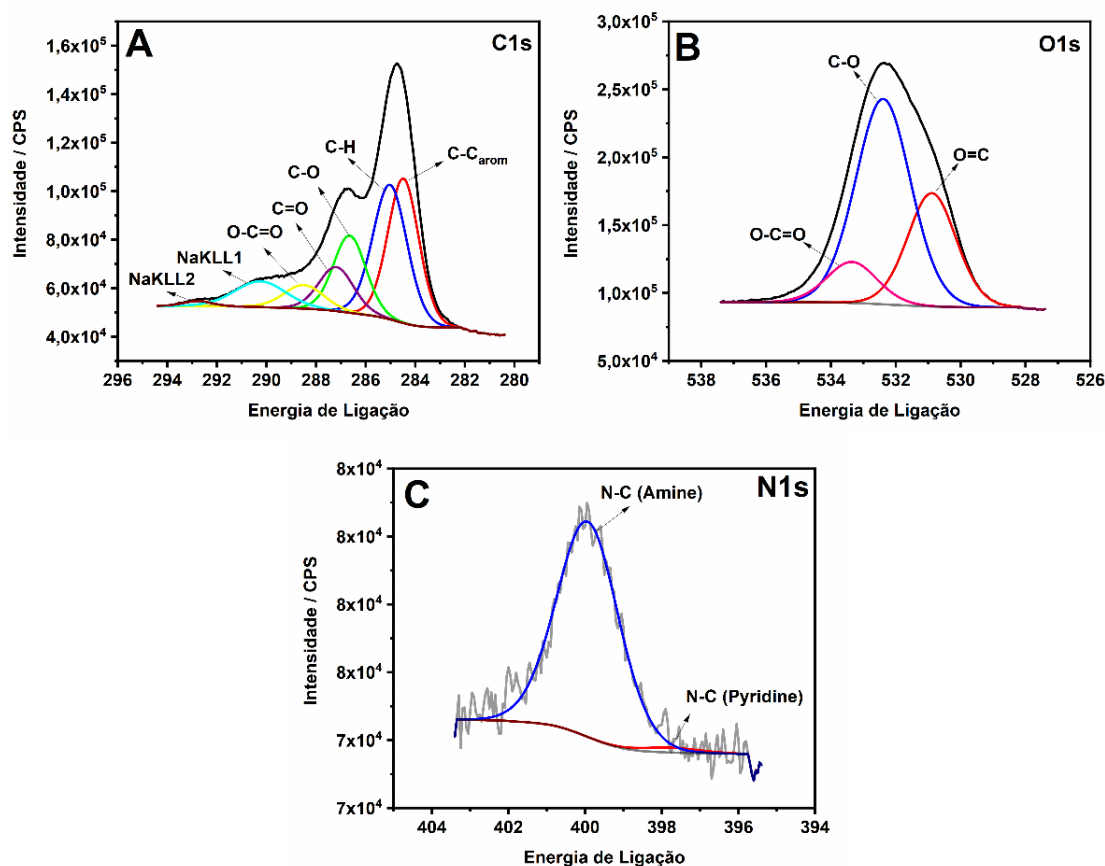


Figura 22: Espectros XPS de alta resolução desconvoluídos para: A) C1s, B) O1s, C) N1s em GCE/rGO@Poli(Gli). **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.6 Caracterização eletroquímica

Caracterizações por EIS e CV foram realizadas para confirmar as modificações de cada etapa da construção do sensor. Uma solução de ferricianeto de potássio $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizada, fixando-se o potencial de oxidação obtido pela CV de cada etapa (Figura 23A). As diferentes etapas foram comparadas em termos de resistência de transferência de carga (*Charge Transfer Resistance* – R_{ct}), extraída do diagrama de Nyquist ajustado com o circuito equivalente de Randles. O circuito apresenta uma resistência da solução (*Solution Resistance* – R_s), devido à resistência ôhmica do eletrólito, dos contatos elétricos e das conexões do sistema eletroquímico uma capacitância de dupla camada elétrica (*Electric Double-Layer Capacitance* – C_{dl}) relacionada ao acúmulo de cargas na interface eletrodo/solução devido à separação de espécies carregadas. Um elemento de fase constante (*Constant Phase Element* – CPE), empregado para representar desvios do

comportamento capacitivo ideal, frequentemente atribuídos à heterogeneidade superficial, rugosidade do eletrodo e distribuição não uniformes de sítios ativos. Uma resistência de transferência de carga (R_{ct}) associada à cinética das reações redox que ocorrem na interface eletrodo/eletrólito, sendo inversamente proporcional à velocidade de transferência eletrônica e um elemento de difusão de Warburg (*Warburg element* – W), descreve os processos difusionais das espécies eletroativas no eletrólito em direção à superfície do eletrodo, predominantes em baixas frequências [182].

Analisando os resultados CV juntamente com os valores de R_{ct} (Figura 23 e Tabela 17), observou-se um aumento na corrente com a adição da camada de rGO (—) em relação ao controle GCE (—), um fenômeno relacionado às propriedades de condutividade do rGO, que diminui o R_{ct} de 384,2 Ω para 38,5 Ω . Em seguida, com a formação do MIP (—), ocorre uma queda na corrente e o valor de R_{ct} sobe para 478,4 Ω devido à adição da camada de filme polimérico de Gly e Mono-RHL. Finalmente, com a extração e formação das cavidades específicas do Mono-RHL (—), a corrente sobe novamente e o valor de R_{ct} diminui para 392,7 Ω . Isso ocorre devido ao maior acesso da sonda eletroquímica à superfície redox através das cavidades formadas. Quando o analito é reconectado à sua cavidade (—), a corrente retorna à intensidade do estágio MIP e R_{ct} aumenta para 639,1 Ω .

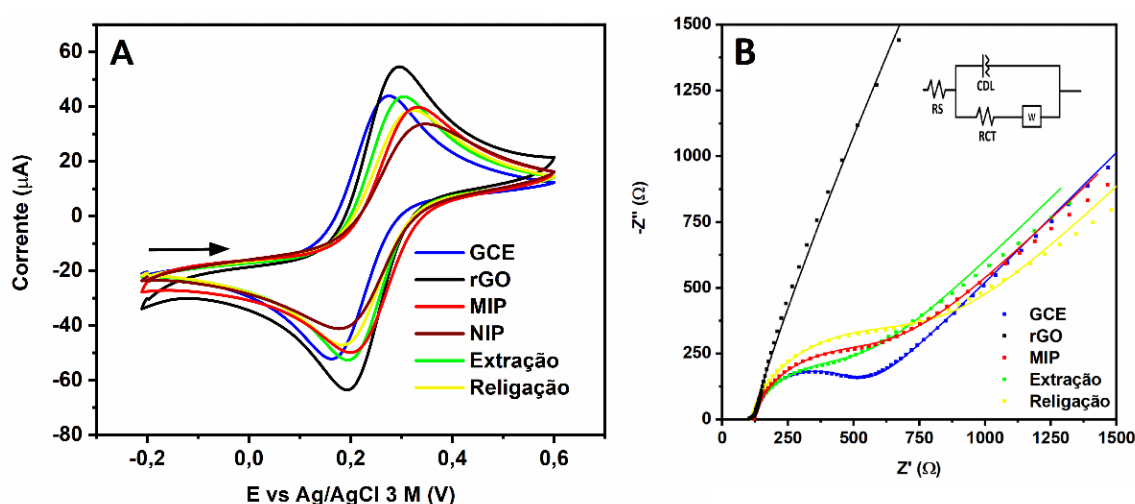


Figura 23: A) CVs para as etapas de formação de GCE/rGO@Poli(Gli); $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$; $K_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $[\text{KCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. B) Diagrama de Nyquist para cada etapa na Figura A (linhas contínuas são ajustes). Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Tabela 17: Valores de Rct obtidos a partir do ajuste do diagrama de Nyquist (n = 3).

Eletrodo	Rct (Ω)
GCE	384,2
GCE/rGO	38,5
GCE/rGO@Poli(Gli)	478,4
GCE/rGO@Poli(Gli) – Extração	391,7
GCE/rGO@Poli(Gli) – Religação	639,1

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Usando CV juntamente com a equação de Randles-Sevcik (Equação 4), as áreas eletroativas de ambos os eletrodos de trabalho (GCE, GCE/rGO e GCE/rGO@Poli(Gli)) foram calculadas conforme mostrado na Figura 24 e nos dados da Tabela 18. Usando esses valores, a área eletroativa dos eletrodos de trabalho foi determinada. Essas áreas são 6,4, 10,0 e 5,4 cm² para GCE, GCE/rGO e GCE/rGO@Poli(Gli), respectivamente.

$$I_p = \pm(2.69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad \text{Equação 4}$$

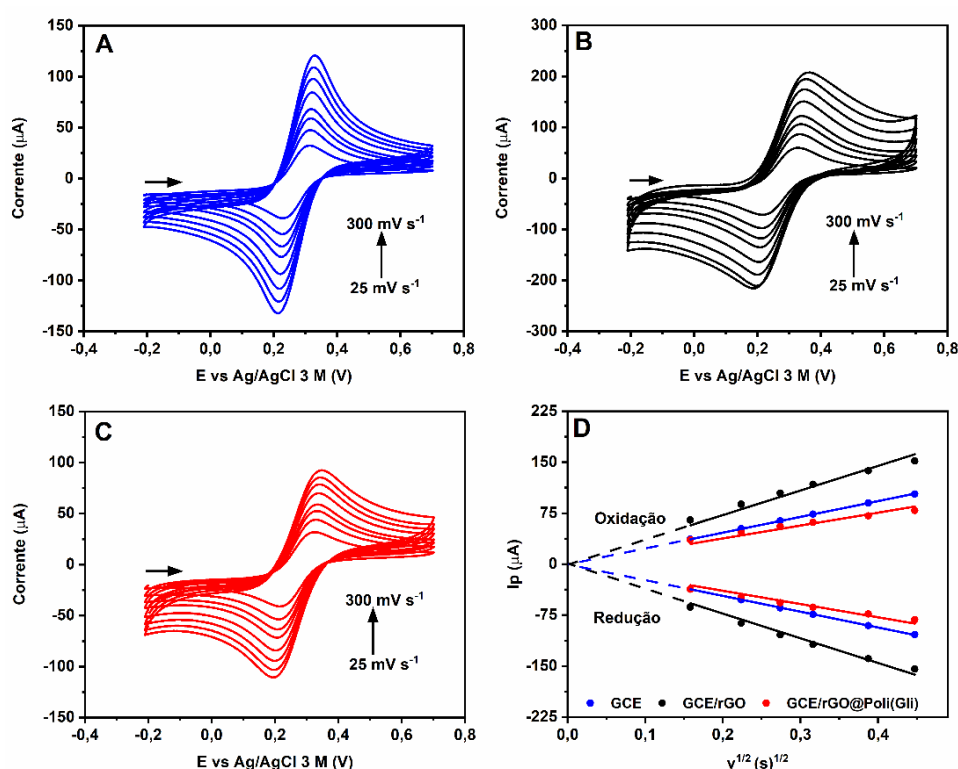


Figura 24: CVs obtidos para 5×10^{-3} mol L⁻¹ de K₃[Fe(CN)₆]. A) GCE. B) GCE/rGO. C) GCE/rGO@Poli(Gli) D) Ip vs. v^{1/2}, GCE (azul), GCE/rGO (preto) e GCE/rGO@Poli(Gli) (vermelho). v = 25; 50; 75; 100; 150; 200 mV s⁻¹. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

A partir desses valores, é possível concluir que a resposta eletroquímica da sonda de ferricianeto de potássio é significativamente influenciada pela superfície do eletrodo de trabalho, resultando em um aumento de 1,6 vezes na presença de rGO em comparação com GCE. Com a adição do filme polimérico ocorre uma diminuição no valor de área eletroativa, este resultado corrobora para com as demais caracterizações sugere uma melhoria na sensibilidade do eletrodo proposto, estando de acordo com outros resultados da literatura [183].

Onde I_p é o valor da corrente de pico anódica ou catódica; D é o coeficiente de difusão ($7,3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) [184], A é a área eletroativa, n é o número de elétrons envolvidos na reação, C é a concentração ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$) e ν é a taxa de varredura potencial (V s^{-1}). O estudo foi realizado em velocidades de 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250 e 300 mV s^{-1} , com os valores de inclinação I_p vs. $\nu^{1/2}$ descritos na Tabela 18.

Tabela 18: Valores da área eletroativa para GCE, GCE/rGO e GCE/rGO@Poli(Gli) obtidos por estudo de velocidade.

Eletrodo	Inclinação ($\mu\text{A V}^{-1/2} \text{ s}^{-1/2}$)	Área (10^{-2} cm^2)
GCE	232,3	6,4
	-232,9	6,4
GCE/rGO	361,8	10,0
	-363,3	10,0
GCE/rGO@Poli(Gli)	189,7	5,2
	-195,3	5,4

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.7 Otimização de parâmetros

Para melhorar o desempenho analítico do sensor e-MIP destinado à determinação de Mono-RHL, alguns parâmetros foram estudados a fim de alcançar maior sensibilidade, ou seja, uma maior diferença na corrente medida através da sonda eletroquímica (ΔI_p). Entre os parâmetros, foram avaliados: razão monômero/analito; número de ciclos de eletropolimerização; tempos de extração e religação do analito; e pH de religação. Esses parâmetros estão diretamente relacionados à formação de cavidades específicas para o analito e à sua detecção (Figura 25).

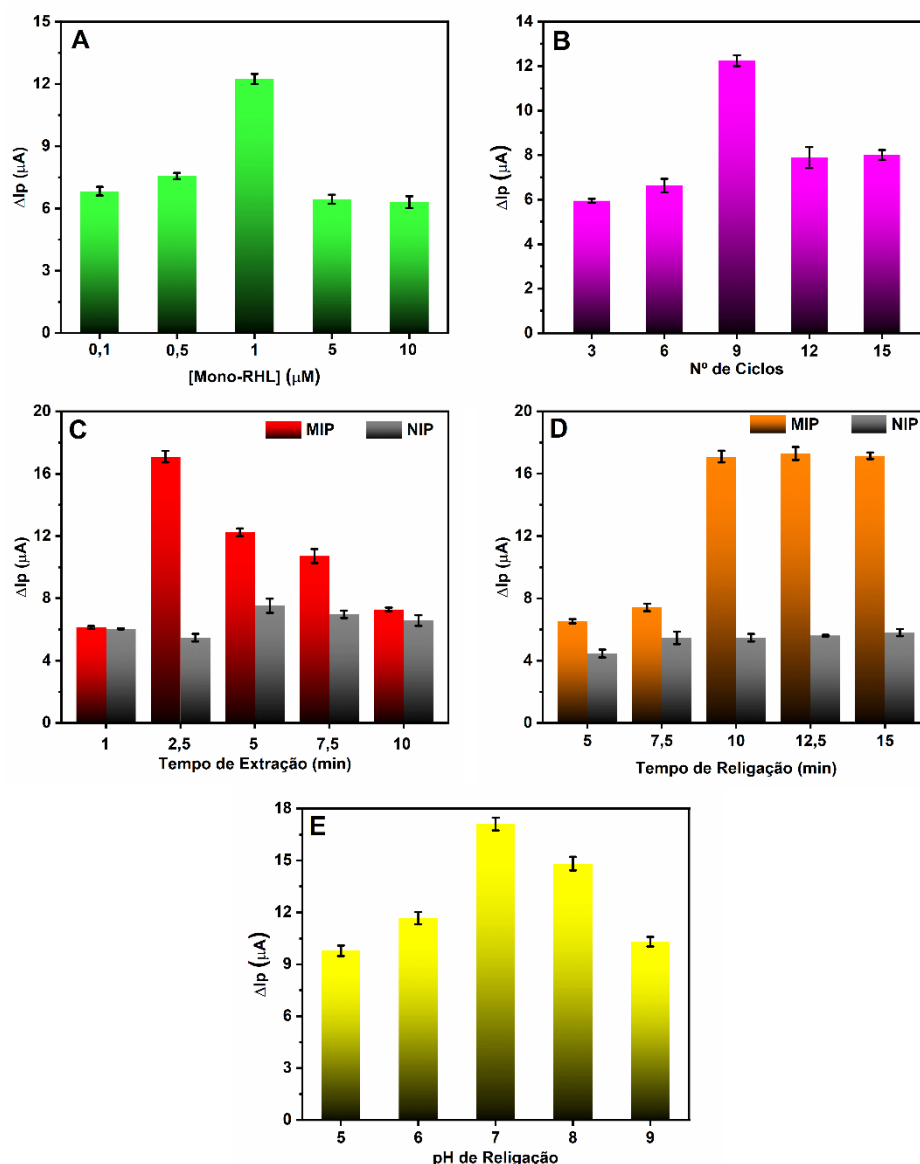


Figura 25: Otimização dos parâmetros A) Concentração de Mono-RHL; fixa: $[\text{Gli}] = 10 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. B) Número de ciclos de eletropolimerização. C) Tempo de extração em solução [Água:Etanol] na proporção de 9:1 para MIP e NIP. D) Tempo de religação em solução $[\text{Mono-RHL}] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para MIP e NIP. E) pH de religação. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.7.1 Número de ciclos e concentração de Mono-RHL

A razão monômero/analito foi o primeiro parâmetro avaliado. Uma concentração de $10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Gly foi fixada, variando-se apenas a concentração de Mono-RHL ($0,1 \times 10^{-6} - 10,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), sendo a quantidade ideal $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 25A). Concentrações muito baixas de Mono-RHL não

são suficientes para a formação de muitas cavidades, causando menor valor de ΔI_p . Com a adição de Mono-RHL após o ponto máximo, houve uma queda no sinal, que pode estar associada à não formação de cavidades específicas ou à aglomeração do analito, gerando cavidades muito grandes. O número de ciclos, que está diretamente relacionado à espessura do filme e, conseqüentemente, à quantidade de cavidades formadas, também foi avaliado. A Figura 25B mostra um aumento no sinal até 9 ciclos, com quedas acentuadas em ΔI_p após esse número de ciclos. Isso pode estar associado à formação de um filme muito espesso após o nono ciclo [183].

4.7.2 Tempos de extração/religação e pH de religação

Os parâmetros de tempo de extração, religação e pH de religação estão diretamente relacionados à detectibilidade do analito nas cavidades. Para avaliar as cavidades formadas, os tempos de extração e religação foram avaliados comparando-os com o sensor NIP (controle, sem cavidades específicas). A extração foi realizada em uma solução hidroalcoólica de água:etanol onde a proporção foi avaliada, tendo melhor resultado na relação (9:1), como mostra a Figura 26. Posteriormente o tempo de extração foi otimizado com agitação, variando o tempo de processo de 1 a 10 min. O uso de solventes orgânicos é amplamente utilizado e descrito na literatura, pois solubiliza o analito removendo-o da cavidade [185]. Na Figura 25C, observa-se um decaimento no sinal, sendo 2,5min o tempo de extração ideal. Esse decaimento pode estar associado à degradação da cavidade ou mesmo do filme, causando menor religação do analito e, conseqüentemente, maior acesso pela sonda. Observa-se também que o controle (NIP) não apresenta praticamente nenhuma variação, permanecendo praticamente constante ao longo do tempo. Isso ocorre devido à adsorção não específica na superfície do GCE/rGO@NIP.

O estudo do tempo de religação foi realizado em uma solução de Mono-RHL $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ sob agitação, variando o tempo de processamento de 5 a 15min (Figura 25D). Há um aumento no sinal até 10min de religação e, após esse tempo, não houve variação significativa em ΔI_p . Isso pode indicar o preenchimento completo das cavidades formadas na etapa de impressão molecular, atingindo o equilíbrio de adsorção do analito com sua cavidade. Semelhante ao controle do tempo de extração, não há variação significativa, apenas adsorção não-específica. Esses dois parâmetros

avaliados juntamente com seus controles corroboram a confirmação da formação dos sítios ativos específicos do Mono-RHL.

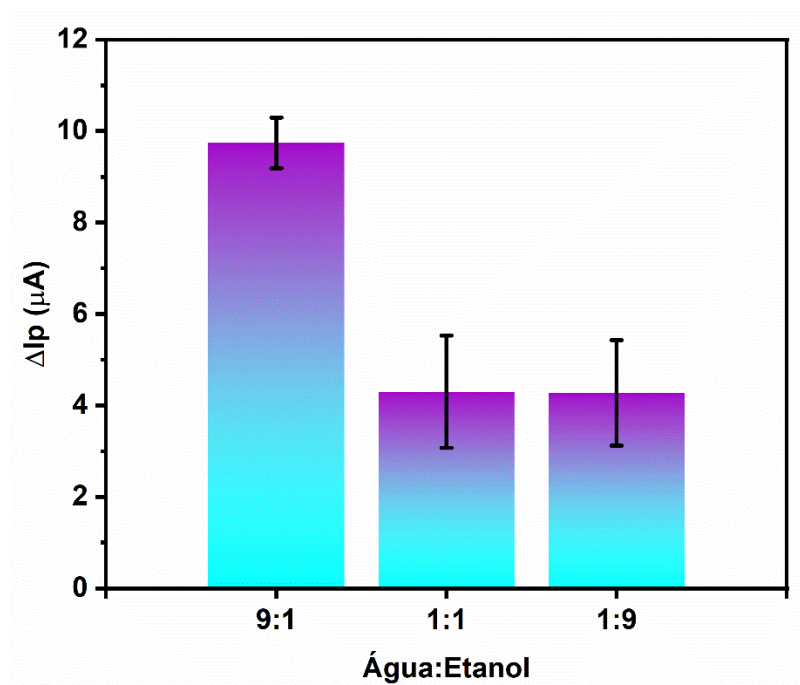


Figura 26: Estudo de proporção entre água e etanol para a extração do Mono-RHL.
Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Em relação ao pH da solução de religação, observa-se que o meio iônico influencia a resposta do sensor, especialmente na etapa de religação, onde a P-Gly apresenta diferentes grupos que interagem com o Mono-RHL; por esse motivo, ele também é avaliado. A faixa de pH estudada foi de 5,0 a 9,0, conforme mostrado na Figura 25E. O pH 7,0 foi o que apresentou o maior ΔI_p , o que está de acordo com o que é relatado na literatura para AAs, onde o pH fisiológico (7,4) é ideal. [186,187].

O pH da solução de religação impacta diretamente o desempenho do sensor, pois modifica a condição de ionização dos grupos funcionais da P-Gly e do Mono-RHL. A P-Gly possui grupos amina e amida, enquanto o Mono-RHL possui grupos carboxílicos e hidroxila, todas sensíveis a mudanças no pH. Essas mudanças alteram as cargas superficiais, afetando assim as interações eletrostáticas e de hidrogênio que ocorrem durante o processo de religação [188]. Quando o pH se aproxima da neutralidade, um melhor estado de equilíbrio é alcançado entre as formas protonadas e desprotonadas, o que favorece interações específicas e uma religação eficiente. Em pH ácido, a protonação excessiva das aminas causa repulsão e redução da afinidade.

Em pH alcalino, a desprotonação das cadeias de carbono no Mono-RHL enfraquece as interações de ligação de hidrogênio, resultando em repulsões negativas. Além disso, o pH afeta a agregação do Mono-RHL, afetando diretamente a criação e a estabilidade das cavidades no MIP [189,190].

4.8 Curva analítica

Uma curva de calibração foi desenvolvida após a otimização dos parâmetros do sensor, utilizando DPV e variando a concentração de Mono-RHL na solução de religação. Nessas condições, os parâmetros de desempenho foram obtidos a partir da Figura 27, onde a faixa de concentração estudada foi de $5,0 \times 10^{-14}$ a $1,0 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹. Duas regiões de linearidade foram observadas, a primeira faixa sendo de $5,0 \times 10^{-14}$ a $0,2 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹, obtendo-se a Equação (5) com R² de 0,998. Essa quebra na linearidade deve-se à dificuldade de acoplamento das moléculas nas cavidades formadas mais internamente, combinada com maior adsorção não-específica do analito na superfície do sensor, uma vez que as cavidades mais externas e mais acessíveis são preenchidas primeiro, sendo esse perfil característico de sensores do tipo MIP [119,191]. A sensibilidade foi de 217,5 $\mu\text{A}/\text{pmol L}^{-1}$ e os limites de detecção e quantificação da curva foram de $1,2 \times 10^{-14}$ e $4,0 \times 10^{-14}$ mol L⁻¹, respectivamente (n = 3).

$$\Delta I_p = 10,3 + 217,5 [\text{Mono} - \text{RHL}]$$

Equação (5)

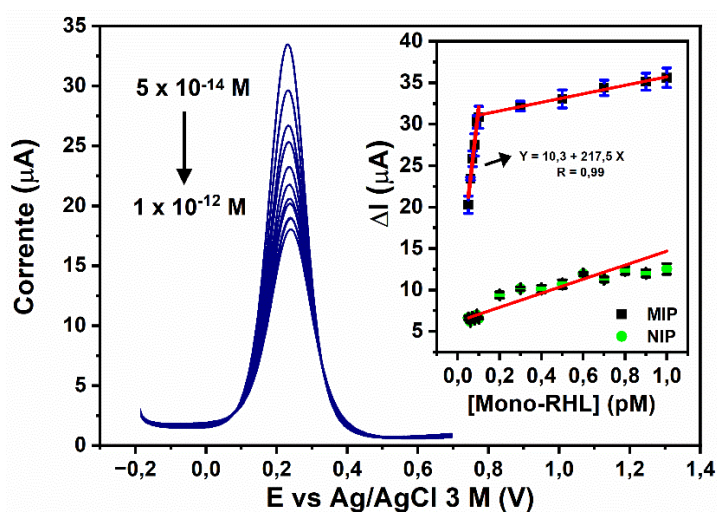


Figura 27: Curva de calibração com DPVs na faixa de $5,0 \times 10^{-14}$ – $1,0 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹ com inserção da variação de I_p em função da concentração para MIP e NIP (n = 3). **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Comparando esses resultados com outros estudos descritos na literatura, podemos verificar a relevância do trabalho desenvolvido (Tabela 19). A maioria das determinações é cromatográfica, utilizando apenas um sensor eletroquímico. Em relação aos métodos cromatográficos, o dispositivo desenvolvido apresenta as vantagens de menor tempo de análise, simplicidade de fabricação, custo de produção moderado e pouco preparo da amostra, mantendo níveis de sensibilidade próximos ou até mesmo superiores. Quanto ao sensor reportado na literatura [96], ele não é específico para a determinação de Mono-RHL, realizando um processo de clivagem para a quantificação do ácido 3-hidroxiodecanóico (3-HDA), não diferenciando o Mono-RHL de outros compostos da classe. No presente estudo, o sensor desenvolvido apresentou uma sensibilidade de $217,5 \mu\text{A}/\text{pmol L}^{-1}$, o que corresponde a $2,2 \times 10^8 \text{ A} \cdot (\text{mol}^{-1} \cdot \text{L})$. Em comparação, o outro sensor obteve uma sensibilidade de apenas $1,3 \times 10^7 \text{ A} \cdot (\text{mol}^{-1} \cdot \text{L})$, evidenciando que o sensor proposto neste trabalho é significativamente mais sensível. Portanto, o sensor proposto é seletivo para Mono-RHL e apresenta um baixo limite de detecção, podendo ser comparado com outros métodos descritos na literatura.

Tabela 19: Comparação dos métodos de quantificação de RHLs.

Metodologia analítica	Faixa linear (mol L^{-1})	LD (mol L^{-1})	AS $\text{A} \cdot (\text{mol}^{-1} \cdot \text{L})$	Ref.
LC-MS/MS	$0,1 \times 10^{-7} - 1,8 \times 10^{-6}$	$5,9 \times 10^{-15}$	–	[165]
HPLC-UV	$2,4 \times 10^{-6} - 4,9 \times 10^{-5}$	$2,4 \times 10^{-6}$	–	[192]
UPLC-MS/MS	$0,1 \times 10^{-6} - 1,2 \times 10^{-4}$	$0,09 \times 10^{-6}$	–	[164]
GCE/rGO/MnNPs/LSer@MIP	$5,3 \times 10^{-12} - 2,7 \times 10^{-10}$	$2,2 \times 10^{-12}$	$1,3 \times 10^7$	[96]
GCE/rGO@Poli(Gli)	$5,0 \times 10^{-14} - 1,0 \times 10^{-12}$	$1,2 \times 10^{-14}$	$2,2 \times 10^8$	Este trabalho

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.9 Seletividade

As cavidades geradas para o Mono-RHL foram avaliadas em termos de seletividade por meio de um estudo com outros compostos interferentes. Os compostos escolhidos foram Di-RHL, ácidos palmítico, ácido oleico, ácido linoleico, ramnose e 3-HDA, todos na concentração de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Para o estudo, o sensor foi produzido normalmente, alterando-se apenas a solução de religação que continha um dos interferentes listados. O controle (NIP) também foi investigado e os resultados são mostrados na Figura 28, onde é possível observar que apenas o Mono-

RHL apresentou uma variação significativa em termos de ΔI_p em comparação com o controle, com valores de 17,1 e 5,5 μA , respectivamente. Isso demonstra que a cavidade é específica para o analito estudado e que os outros compostos não se ligam às cavidades produzidas. Embora as moléculas sejam estruturalmente semelhantes, existem pequenas diferenças nas saturações e nas quantidades de carbono, o que é suficiente para impedir o acoplamento nas cavidades geradas, uma vez que elas não são complementares em tamanho, forma e interações.

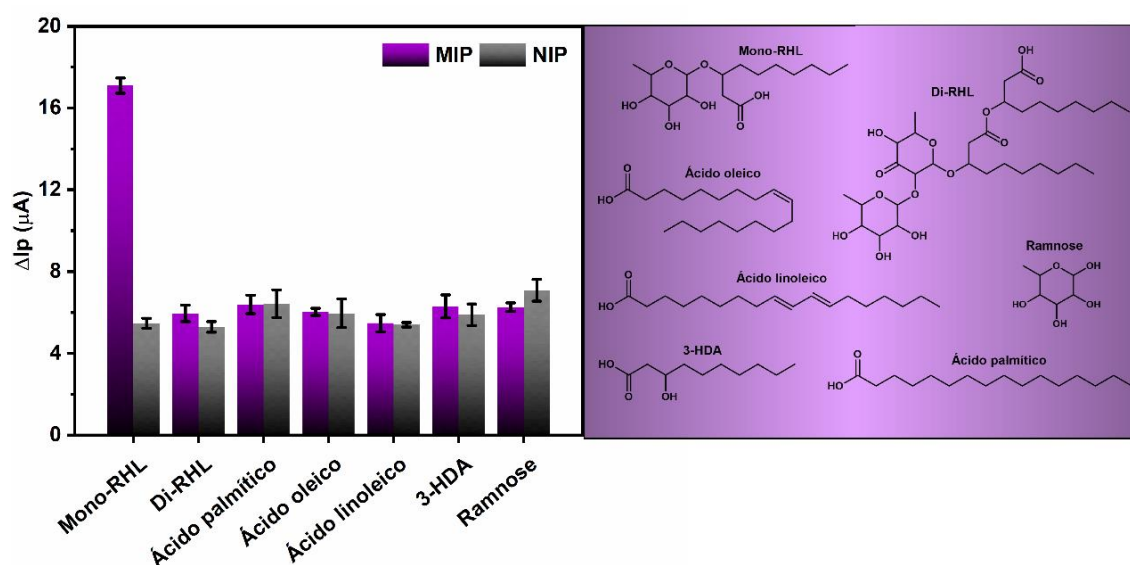


Figura 28: Estudo de seletividade de cavidade com impressão molecular de Mono-RHL ($n = 3$). **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Outras informações obtidas a partir da Figura 28 são os dados apresentados na Tabela 20, onde os parâmetros (α), referentes ao fator de impressão molecular, e (β), referentes ao fator de seletividade, foram calculados para o Mono-RHL e os interferentes. As Equações (6) e (7) foram utilizadas para o cálculo de α e β , respectivamente. Para α , o maior valor foi 3,1 para o Mono-RHL e inferior a 1,1 para os demais interferentes. Isso indica que as cavidades formadas possuem maior capacidade de interação com o Mono-RHL pelo efeito de impressão molecular [82,96]. Para β , os valores encontrados demonstram maior capacidade seletiva para o Mono-RHL; consequentemente, os sítios ativos apresentam uma orientação espacial mais favorável para o analito, em detrimento dos demais compostos [82,96].

$$\alpha = \frac{\Delta I_p(MIP)}{\Delta I_p(NIP)} \quad \text{Equação (6)}$$

$$\beta = \frac{\alpha(Mono-RHL)}{\alpha(Interferente)} \quad \text{Equação (7)}$$

Tabela 20: Valores dos parâmetros de seletividade α e β do GCE/rGO@PoliGli.

Molécula	ΔI_p MIP (μA)	ΔI_p NIP (μA)	α	β
Mono-RHL	17,1	5,5	3,1	–
Di-RHL	6,0	5,3	1,1	2,8
Ácido palmítico	6,4	6,4	1,0	3,1
Ácido oleico	6,0	6,0	1,0	3,1
Ácido linoleico	5,5	5,4	1,0	3,1
3-HDA	6,3	5,9	1,1	2,9
Ramnose	6,3	7,1	0,9	3,5

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.10 Aplicação em amostras de RHLs

O sensor desenvolvido foi aplicado para determinar Mono-RHL em amostras com concentrações desconhecidas de RHLs produzidas em sistemas bioeletroquímicos por *Pseudomonas aeruginosa*. Uma alíquota da amostra foi diluída até a faixa de trabalho do sensor e, em seguida, quantificada (Tabela 21). O valor encontrado na alíquota foi de $10,9 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$, com $10,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Mono-RHL na amostra original. Portanto, o método proposto pode ser aplicado para determinar Mono-RHL em amostras reais.

Tabela 21: Quantidades adicionadas e encontradas, desvios padrão relativos e taxas de recuperação ($n = 3$).

Amostra	Adicionado (10^{-12} M)	Encontrado (10^{-14} M)	Recuperado (%)	DPR (%)
Mono-RHL	–	$10,9 \pm 0,2$	–	–
	7,0	$18,2 \pm 0,5$	102,4	2,7
	8,0	$19,1 \pm 0,3$	101,6	1,4
	9,0	$19,6 \pm 0,3$	96,4	1,3

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.11 Estudo de recuperação

A DPV e o sensor GCE/rGO@Poli(Gli) foram usados para determinar as quantidades recuperadas pelo método de adição padrão à amostra, que foi usado para minimizar o efeito da matriz (Figura 29 e Tabela 21). Quantidades conhecidas do padrão analítico Mono-RHL de $7, 8$ e $9 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ (P1, P2 e P3) foram adicionadas às amostras de RHLs e, posteriormente, à célula eletroquímica, e voltametrias foram obtidas (Figura 29B). As recuperações variaram de 96% a 102%, com um Desvio Padrão Relativo (DPR) abaixo de 2,6% (Tabela 21), demonstrando a precisão do método.

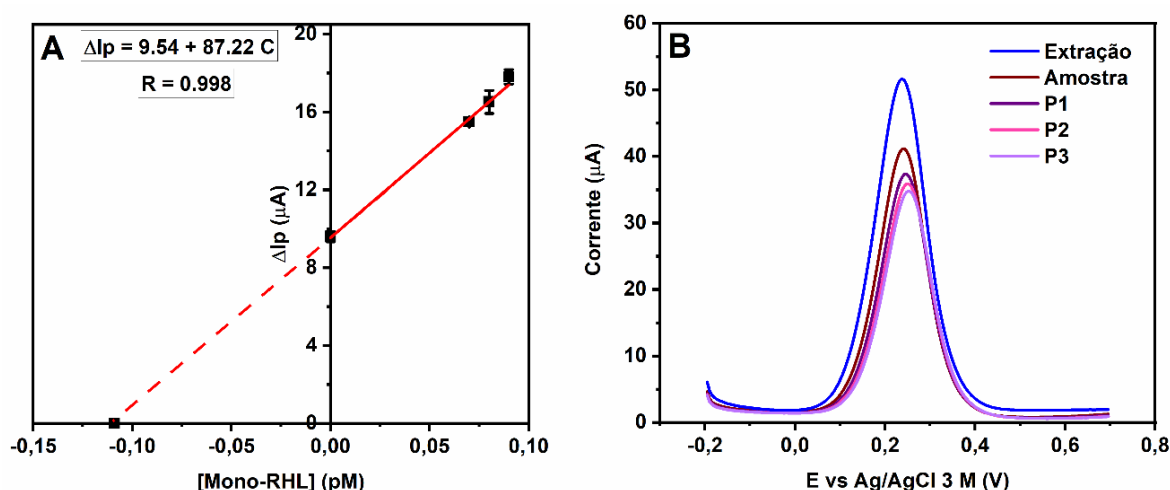


Figura 29: A) Curva de adição padrão obtida pela aplicação à amostra. B) Voltamogramas de pulso diferencial (DPV) obtidos para a etapa de extração, adição da amostra e adição do padrão. $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.12 Avaliação da repetibilidade e estabilidade do GCE/rGO@poli(Gly)

A repetibilidade e a estabilidade do sensor foram avaliadas utilizando soldagem eletroquímica de ferricianeto de potássio $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ na determinação de Mono-RHL ($0,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$). Para o estudo de repetibilidade, 7 eletrodos de trabalho GCE/rGO@poli(Gli) foram desenvolvidos e testados (Figura 30A), onde a resposta média foi de aproximadamente $11 \mu\text{A}$ de ΔI_p com um DPR de 4,11%, mostrando que a metodologia de construção do sensor é repetível e com baixa variação de sinal. Em relação à estabilidade intradia, medições consecutivas (ciclos de extração/religação) foram realizadas com o mesmo GCE/rGO@poli(Gli) (Figura

30B), onde o ΔI_p inicial foi de aproximadamente 12 μA . Como resultado, o GCE/rGO@Poli(Gli) preservou 87,4% do sinal até o quarto ciclo, caindo para 82,1% no sexto ciclo, o que demonstra que o mesmo sensor pode ser reutilizado pelo menos quatro vezes, mantendo uma excelente resposta analítica.

Ao avaliar a estabilidade interdia, onde o mesmo dispositivo é armazenado à temperatura ambiente (25 °C), na ausência de luz e testado em dias diferentes, observou-se uma perda completa da resposta de um dia para o outro, alterando o perfil voltamétrico (Figura 30C), indicando uma degradação do filme MIP após 24h. Embora o teor de etanol na mistura água:etanol (9:1) seja relativamente baixo, o etanol ainda pode ter um impacto significativo na estabilidade do filme polimérico (MIP), especialmente após o processo de dessorção.

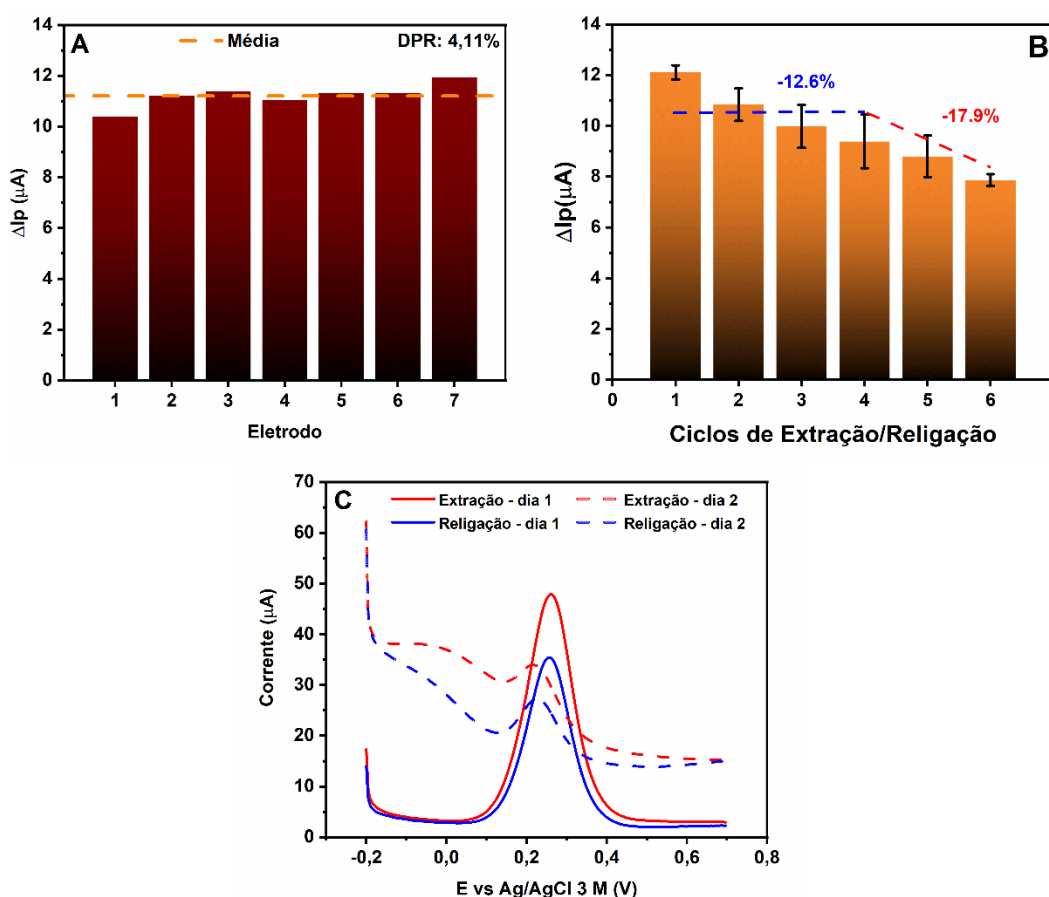


Figura 30: A) Estudo de repetibilidade em diferentes GCE/rGO@Poli(Gli). B) Estabilidade intradiária para um GCE/rGO@Poli(Gli). C) Estudo de estabilidade interdiária para GCE/rGO@Poli(Gli). [Mono-RHL] = $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Existem várias razões possíveis para a degradação observada na cavidade ou mesmo no filme, como: ruptura das redes de ligações de hidrogênio da matriz polimérica, enfraquecendo as interações intra e intermoleculares dentro do polímero; Efeito de intumescimento da matriz polimérica, onde a adição de EtOH pode reduzir a polaridade da fase aquosa, alterando o ambiente de solvatação; Natureza anfifílica do molde: o Mono-RHL, por ser anfifílico, tende a se agregar em micelas e, durante a dessorção, a solubilidade parcial do Mono-RHL em água e etanol (9:1) pode ser facilitada, mas também pode desestabilizar as interações polímero-molde; e, finalmente, alteração na energia superficial, onde a presença de etanol reduz a tensão superficial da mistura. Essa alteração pode afetar a adesão entre o filme MIP e o substrato, especialmente em sensores de filme fino, levando à delaminação ou fissuração após múltiplos ciclos de colagem e lavagem [193,194]. Esta última hipótese é a mais provável e pode ser observada no estudo de estabilidade intradia (Figura 30B), onde, após alguns ciclos, há uma diminuição na diferença de corrente inicial (ΔI_p).

4.13 Conclusão

Um novo sensor foi desenvolvido com base em polímeros de impressão molecular eletropolimerizados com glicina sob óxido de grafeno reduzido, para a quantificação de Mono-RHL em amostras de RHL produzidas em sistemas bioeletroquímicos. Todas as etapas de construção do sensor foram caracterizadas por diversas técnicas eletroquímicas (EIS e CV), espectroscópicas (XPS, EDS e FTIR) e microscópicas (SEM), demonstrando a importância do filme de e-MIP de P-Gly sobre rGO na sensibilidade e seletividade do sensor desenvolvido. Sob condições experimentais otimizadas, os parâmetros de desempenho foram calculados, encontrando-se um baixo LD de $2,1 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$ na faixa de concentração linear de $5,0 \times 10^{-14}$ a $0,2 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$. Portanto, os resultados experimentais revelaram que o sensor eletroquímico apresentou boa seletividade, precisão, repetibilidade e reprodutibilidade. Em comparação com outros métodos descritos na literatura, o sensor GCE/rGO@Poli(Gli) mostrou-se superior em termos de custo, tempo de análise e sensibilidade. Os resultados indicam que a plataforma de detecção proposta neste trabalho é uma alternativa simples, sensível, estável e robusta para quantificar Mono-RHL em diferentes matrizes de amostra.

4.14 Sensor eletroquímico baseado em filme de poli(leucina) com impressão molecular sob óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de ouro para a determinação de xilotriose em amostras oriundas de resíduos agroindustriais.

Os XOSs são oligossacarídeos não digeríveis, que estão presentes em alguns alimentos como leite, mel e vegetais e podem ser obtidos por processo biológico, através de enzimas [32]. Os XOSs são constituídos por unidades de xilose, diferenciando apenas no grau de polimerização, sendo a xilobiose, xilotriose e xilotetrose (Figura 31) os produtos majoritários, tendo taxas de conversão de 66% a partir de resíduos de banana, relatadas na literatura [195]. A principal aplicação é em alimentos por apresentar característica probiótica, aumentando o crescimento, vigor e o potencial do metabolismo de microrganismos presentes no trato gastrointestinal, melhorando a saúde do indivíduo [196,197]. Outras propriedades benéficas a saúde é verificada em diversos distúrbios dos nossos sistemas, cardiovasculares, neurológicos, inflamatórios, oncológicos e endócrinos [198].

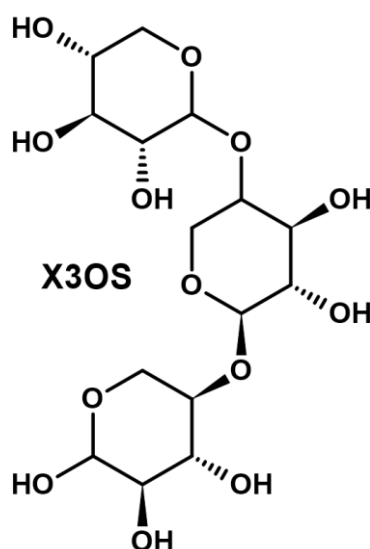


Figura 31: Estrutura química da Xilotriose (X3OS). **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Em termos de quantificação, os diferentes tipos de cromatografia predominam na quantificação de XOSs devido à sua alta sensibilidade. Em uma revisão sobre análise e produção de XOS, as técnicas de HPLC, GC/MS, Cromatografia de Troca

Aniônica de Alto Desempenho com Detecção Amperométrica Pulsada (HPAEC/PAD), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e eletroforese capilar são listadas como principais meios de quantificação de XOS [199]. Para cada método existem vantagens e desvantagem, por isso, outras técnicas podem ser utilizadas pois oferecem maior praticidade e rapidez de análise, como as técnicas eletroanalíticas através do desenvolvimento de sensores eletroquímicos modificados, mantendo as propriedades de alta sensibilidade, adicionando seletividade, pouco ou nenhum tratamento da amostra e possibilidade de portabilidade, além de um tempo de produção relativamente curto, sendo aplicados na determinação dos mais diversos compostos [200,201]. Até o presente momento, não foi descrito nenhum sensor eletroquímico que determinou X3OS, portanto, essa pesquisa é uma grande inovação sendo o primeiro sensor eletroquímico para essa finalidade. O objetivo deste trabalho é a determinação seletiva de X3OS em sua forma integral, o que representa um avanço significativo, visto que este é o primeiro sensor descrito para a quantificação seletiva de X3OS. Outro ponto relevante e inovador desta pesquisa é a construção de um sensor eletroquímico do tipo polímero MIP para uma macromolécula como o X3OS, o que representa um desafio considerável devido ao tamanho das cavidades formadas durante o processo de impressão molecular.

O foco foi o desenvolvimento de um sensor eletroquímico para a determinação seletiva de X3OS, utilizando impressão molecular de P-Leu produzida eletroquimicamente sob filmes de rGO e decoradas com AuNPs. Mantendo as propriedades de alta sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade e baixo custo de produção, sendo o sensor aplicado em amostras produzidas através de processos enzimáticos em resíduos de banana.

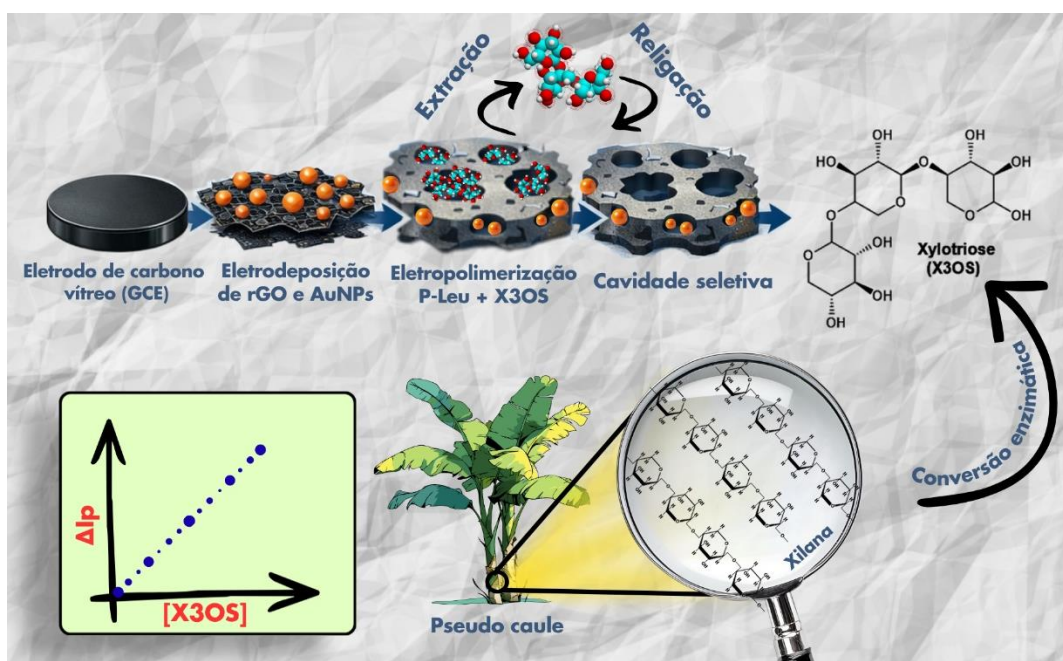


Gráfico 3: Sensor eletroquímico baseado em filme de poli(leucina) com impressão molecular sob rGO e AuNPs para a determinação de X3OS. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.15 Comportamento eletroquímico do X3OS

Estudos sobre o comportamento redox do X3OS foram realizados utilizando a CV em dois intervalos de potencial ($-2,0$ a $0,0$ V e $0,0$ a $1,9$ V), como mostra a Figura 32. O eletrólito de suporte utilizado foi PB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0), a velocidade de varredura foi fixada em 100 mV s^{-1} e a solução foi previamente desoxigenada por borbulhamento de $\text{N}_{2(g)}$ durante 15 min.

A estrutura da X3OS, mostrada na Figura 31, é constituída por unidades de xilose e apresentando grupos funcionais normalmente inativos eletroquimicamente, como grupos éteres e hidroxilas, que não participam diretamente de processos redox nas condições estudadas. Ao avaliar o comportamento eletroquímico da X3OS sobre a superfície do GCE (Figura 32 A e B), observa-se a ausência de picos faradáicos atribuíveis a processos redox do X3OS, sendo detectados apenas processos capacitivos na janela de potencial investigada.

Na Figura 32B pode ser observado um deslocamento do potencial de oxidação da água de aproximadamente $1,6$ V para potenciais mais positivos ($\sim 1,8$ V) na presença do X3OS. Esse comportamento pode estar associado à adsorção de X3OS

na superfície do GCE, promovendo uma modificação da interface eletrodo/solução e dificultando a descarga associada ao processo de oxidação.

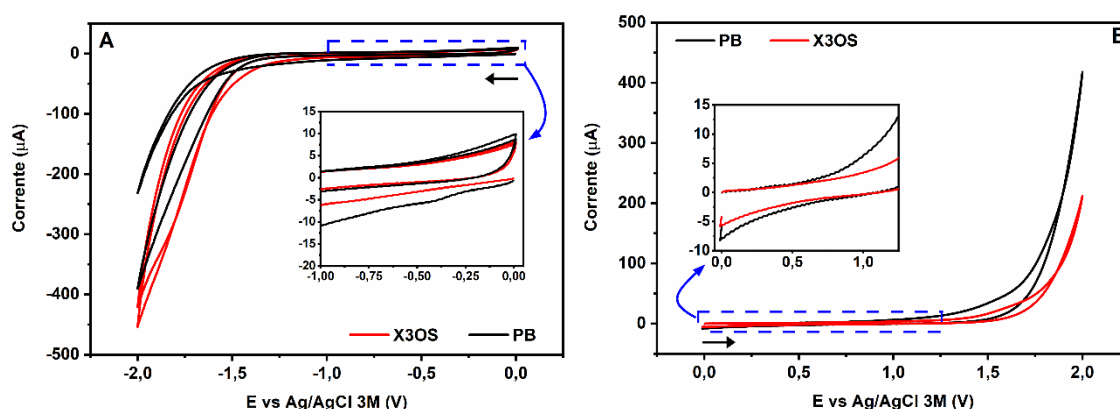
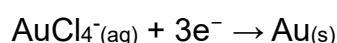
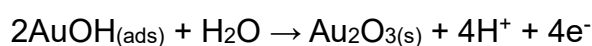
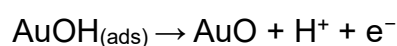
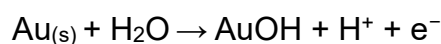


Figura 32: Voltamogramas cíclicos em GCE na presença de X3OS em GCE. A) Região catódica e B) Região anódica. [X3OS] 5×10^{-3} mol L $^{-1}$; Tampão [PB] = 0,1 mol L $^{-1}$ em pH 7; $\nu = 100$ mV s $^{-1}$. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

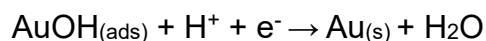
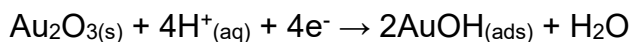
As AuNPs e CuNPs foram eletrodepositadas em GCE com o objetivo de investigar um possível efeito catalítico no comportamento redox do X3OS. Inicialmente, foi utilizada a CV em solução de HAuCl $_4$ ($0,5 \times 10^{-3}$ mol L $^{-1}$) em H $_2$ SO $_4$ 0,5 mol L $^{-1}$ para a identificar o potencial de redução do ouro metálico. Inicialmente, a espécie AuCl $_4^-$ em solução é reduzida a Au 0 devido a medida ser iniciada no potencial 0,0 V. Conforme apresentado na Figura 33A, o processo de redução ocorre em torno de +0,7 V [202], pela reação:



Os picos de oxidação observados nos voltamogramas estão associados à oxidação do ouro metálico, com formação de AuOH (Au $^{+1}$) em aproximadamente +1,1 V, bem como à formação de espécies de óxido de ouro, como AuO (Au $^{+2}$), Au $_2$ O $_3$ (Au $^{+3}$), em torno de +1,3 V [202], conforme descrito pelas reações:



Em potenciais próximos a +0,9 V observa-se o processo de redução dos óxidos formados, e formação novamente em Au⁰ em potencial +0,7 V [202], descrito pelas reações:

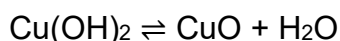


Posteriormente, o potencial de +0,7 V foi fixado e aplicado por CA até atingir uma carga total de 1,0 mC, conforme otimização previamente descrita na literatura [148].

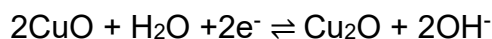
Para a formação das nanopartículas de cobre (CuNPs), realizou-se uma CA em potencial de -0,4 V, em solução de Cu(NO₃)₂ (concentração especificada), durante 120s. Em seguida, visando a ativação eletroquímica das CuNPs, empregou-se a CV no intervalo de -0,7 a +0,3 V em solução de NaOH 1 mol L⁻¹ (Figura 33B). Observam-se dois picos anódicos próximos em potenciais em torno de -50 mV, atribuídos à formação de óxido cuproso, conforme a reação:



Em potenciais mais positivos, aproximadamente +20 mV, ocorre a formação de hidróxido cúprico ou óxido cúprico, resultante da oxidação do Cu₂O ou do próprio Cu metálico a Cu²⁺, conforme as reações:



No sentido inverso da varredura, observa-se a redução das espécies oxidadas e a redeposição de cobre metálico em potenciais próximos a -0,35 V, conforme descrito pelas reações:



O processo de ativação das CuNPs em meio alcalino promove o aumento progressivo da intensidade dos picos anódicos e catódicos ao longo dos ciclos voltamétricos, indicando a formação de uma estrutura nanoporosa ou dendrítica de

cobre com elevada área superficial eletroativa [203]. Esse comportamento é evidenciado na Figura 33B pelo aumento de corrente a cada novo ciclo.

Como resultado, a Figura 34 mostra que não foram identificados processos redox anódicos ou catódicos atribuíveis ao X3OS sobre as superfícies GCE/Au e GCE/Cu, sendo observadas apenas reações características do ouro e do cobre, as quais apresentam diminuição de intensidade na presença do analito. Esse comportamento pode ser atribuído à adsorção superficial do X3OS, que dificulta a ocorrência dos processos redox dessas espécies metálicas.

Considerando que o X3OS não apresenta picos faradáicos nas condições estudadas, sua determinação eletroquímica não pode ser realizada de forma direta, tornando necessária a adoção de uma abordagem indireta. Nesse contexto, empregou-se como sonda eletroquímica o ferricianeto de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$), na concentração de $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

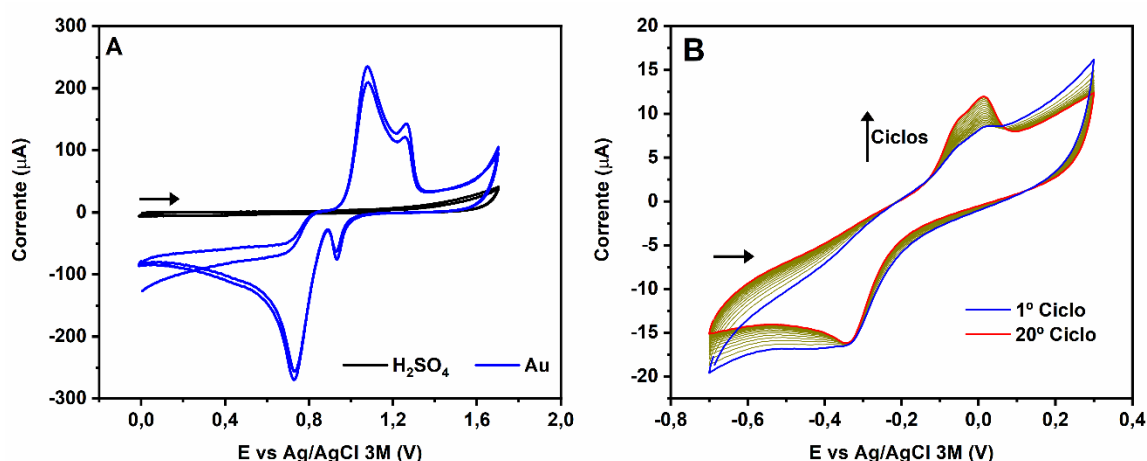


Figura 33: A) Perfil voltamétrico do GCE na presença e ausência de $HAuCl_4$ ($0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. B) CVs de ativação das CuNPs em NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Visando otimizar a capacidade de detecção, as nanopartículas (NPs) foram testadas para verificar se conseguiam intensificar a corrente na análise eletroquímica do ferricianeto de potássio (Figura 35). Observando a Figura 35A, a superfície GCE/Cu mostrou uma corrente de pico menor do que as outras para o par redox Fe^{3+}/Fe^{2+} , enquanto o GCE/Au revelou um aumento considerável em comparação com o controle GCE. O decréscimo no sinal observado no GCE/Cu pode estar ligado à oxidação do

cobre, que acontece perto de 0,1 V, que está associada à criação de hidróxidos ou óxidos de cobre. Tais elementos podem atuar como um bloqueio parcial, diminuindo a transferência de elétrons da sonda redox.

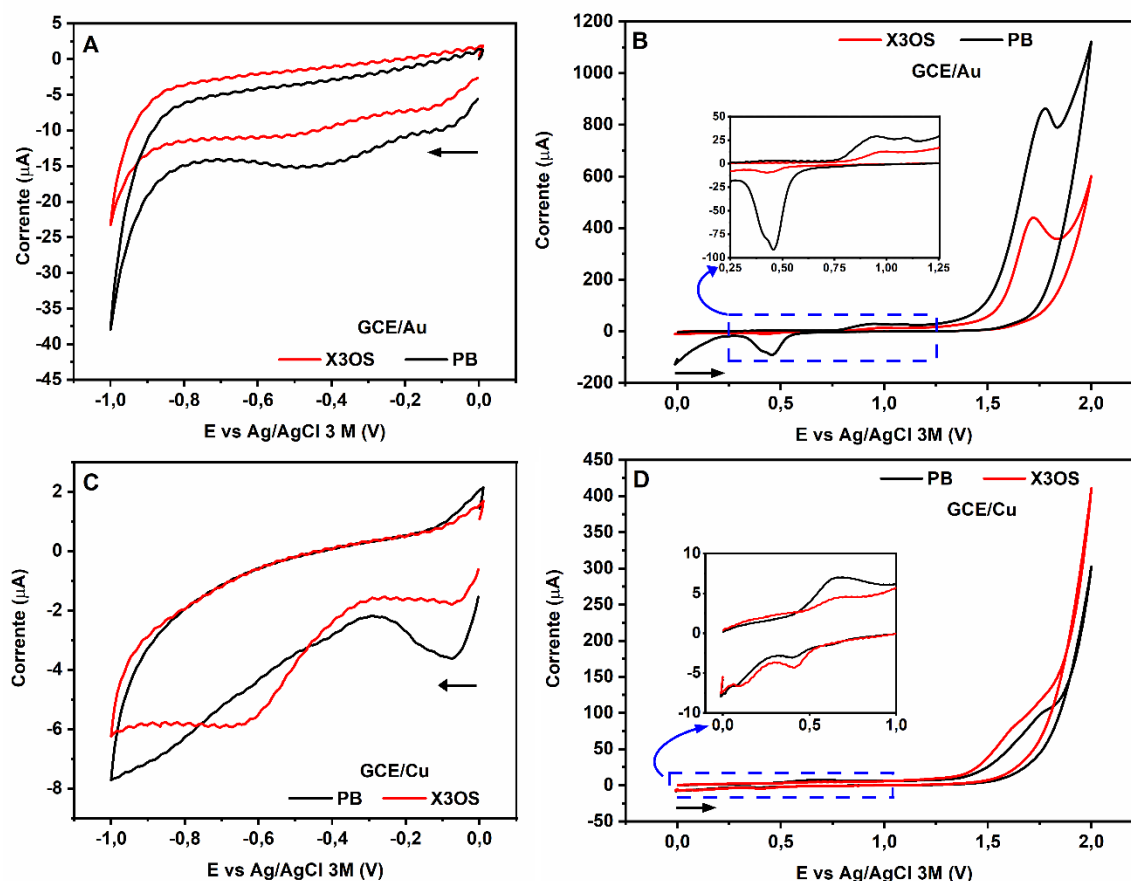


Figura 34: Comportamento eletroquímico do X3OS. Voltamogramas cíclicos (CVs) para as regiões catódica e anódica de A e B) GCE/Au; C e D) GCE/Cu, respectivamente. $[X3OS] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[PB] = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7; 100 mV s^{-1} ; $N_2(g)$ por 15 min. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

As AuNPs foram selecionadas e mantidas no sensor sendo analisadas junto com rGO em solução de ferricianeto de potássio ($5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, com a técnica de voltametria cíclica (Figura 35B). As superfícies estudadas foram: GCE, GCE/rGO, GCE/Au e GCE/rGO/Au. Os resultados apontaram um aumento percentual na corrente de pico, ao comparar ao GCE, de:

- 45% quando a superfície foi alterada com rGO (GCE/rGO);
- 38% para a superfície alterada com AuNPs (GCE/Au);
- 55% com a alteração combinada (GCE/rGO/Au).

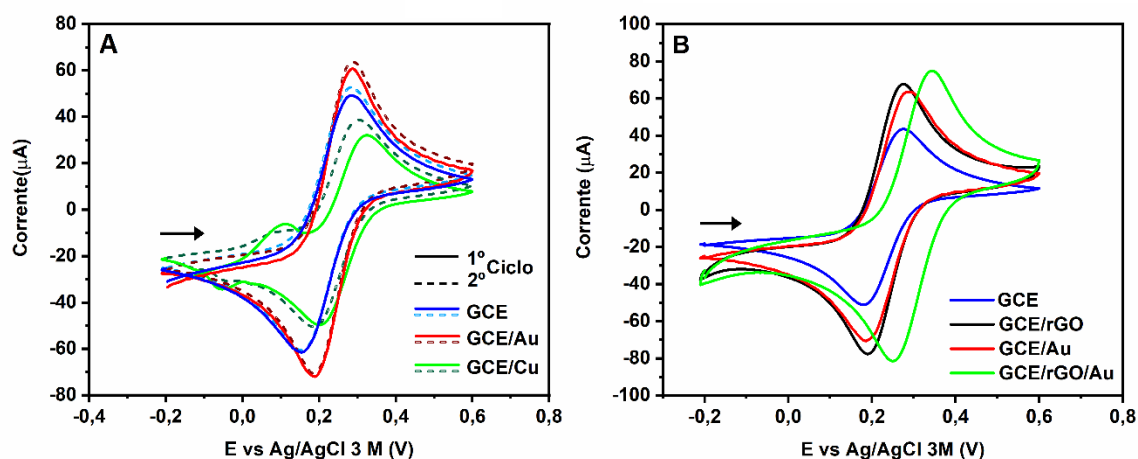


Figura 35: Caracterização das etapas de modificação do sensor. A) CVs comparando de CuNPs e AuNPs na resposta eletroquímica da sonda Redox $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$. B) CVs para as superfícies GCE, GCE/rGO, GCE/Au e GCE/rGO/Au na sonda Redox $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$. ($5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) $[\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]] = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; 100 mV s^{-1} . **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Essas informações demonstram uma melhora importante na condutividade e, portanto, maior capacidade de detecção do sensor. Esse resultado superior se deve às propriedades do rGO e das AuNPs, que ampliam a área eletroativa e facilitam a transferência de elétrons entre o eletrodo e a solução. Além disso, o rGO mostrou-se um excelente substrato na fixação das AuNPs, mostrando a importância de combinar esses dois materiais no sensor final.

4.16 Eletropolimerização

O comportamento eletroquímico da L-Leu e seu processo de eletropolimerização foram investigados em GCE, juntamente com a modificação do GCE com rGO sobre a polimerização e as propriedades da matriz polimérica formada. Três diferentes metodologias de eletropolimerização foram avaliadas (Tabela 22), onde parâmetros como velocidade de varredura, concentração de L-Leu, número de ciclos, eletrólito e intervalo de potencial aplicado foram investigados (Figura 36).

Os resultados mostram variações significativas na formação dos filmes poliméricos de L-Leu na superfície do GCE. As Figura 36 B, C e D apresentam diferentes perfis voltamétricos obtidos nas condições estudadas, o que indica alterações na estrutura e nas propriedades dos filmes formados frente as variações dos parâmetros eletroquímicos. Dentre as metodologias avaliadas, a metodologia 2

(Ep 2) destacou-se por apresentar o maior incremento de corrente nos perfis voltamétricos (Figura 36A), sugerindo uma formação mais eficiente e reprodutível do filme polimérico.

Quando a eletropolimerização foi realizada sobre o GCE/rGO, observaram-se modificações nos perfis voltamétricos de polimerização (Figura 37 B, C e D), atribuídas à presença do rGO, influenciando nos processos de nucleação e crescimento do polímero. Além disso, nos estudos empregando a sonda redox ferricianeto de potássio (Figura 37A), foi observado comportamento semelhante ao do GCE não modificado, sendo a metodologia 2 novamente associada ao maior incremento de corrente dentre todos os filmes poliméricos, indicativo de melhor condutividade e formação do filme. Portanto, as condições estabelecidas para Ep 2 foram definidas como as mais adequadas para a formação de filmes de P-Leu tanto sobre o GCE quanto sobre o GCE/rGO. Um ponto importante a mencionar diz respeito ao pH utilizado (pH6) que corresponde ao pl da L-Leu, forma onde as cargas do monômero estão em equilíbrio, o que pode explicar esse ganho de corrente.

Tabela 22: Parâmetros avaliados na formação da P-Leu nas superfícies GCE e GCE/rGO.

Metodologias	Velocidade 10^{-3} V s^{-1}	Nº de ciclos	Concentração 10^{-3} M	Faixa de Potencial(V)	Eletrólito (mol L^{-1})	Ref.
Ep 1	50	10	1	-0,5 – 0,4	NaOH 1,0	[204]
Ep 2	100	5	5	-0,5 – 2,0	PB 0,1 (pH 6)	[205]
Ep 3	25	3	5	0,0 – 2,0	PB 0,1 (pH 6)	

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Os processos eletroquímicos envolvidos na etapa de eletropolimerização sobre a superfície GCE/rGO/Au foram investigados por meio de diferentes estudos utilizando voltametria cíclica (CV) (Figura 38). Na Figura 38A, observa-se um pico de oxidação em aproximadamente 1,5 V, o qual surge exclusivamente após a adição de rGO à superfície do eletrodo. Esse comportamento indica a oxidação de espécies associadas ao óxido de grafeno reduzido, uma vez que tal processo não é observado nos eletrodos GCE e GCE/Au.

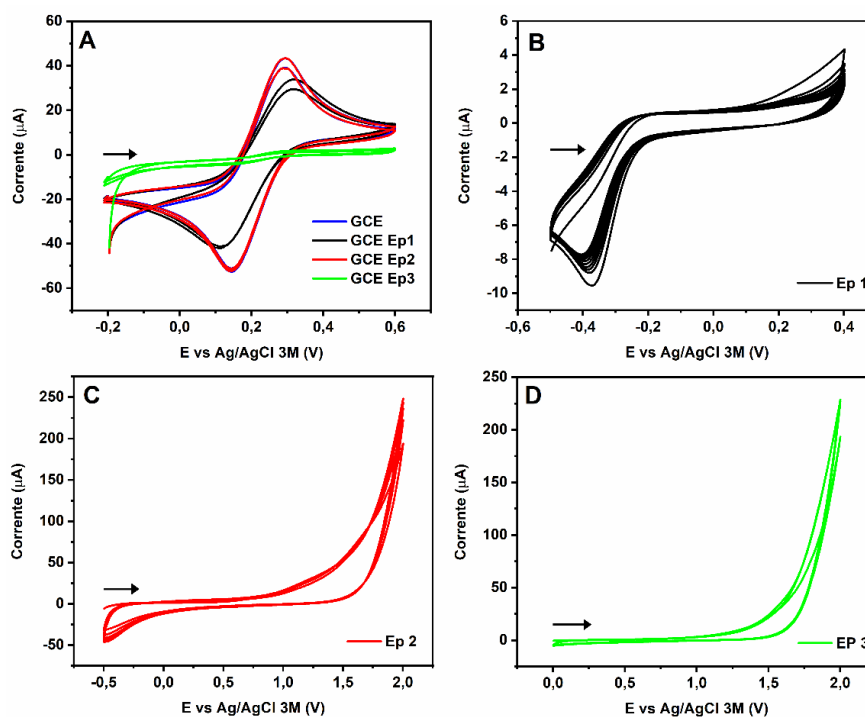


Figura 36: Estudo da eletropolimerização de L-Leu. A) CVs após EP 1, 2 e 3 em GCE. B) Perfil de formação de P-Leu Ep 1. C) Perfil de formação de P-Leu Ep 2. D) Perfil de formação de P-Leu Ep 3. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

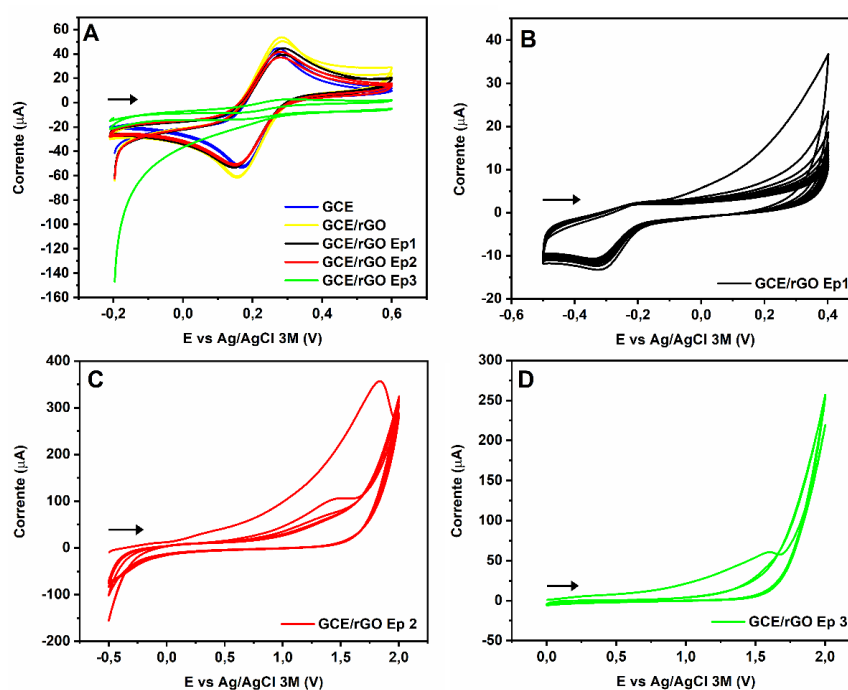


Figura 37: Estudo da eletropolimerização de L-Leu. A) CVs após EP 1, 2 e 3 em GCE/rGO. B) Perfil de formação de P-Leu Ep 1. C) Perfil de formação de P-Leu Ep 2. D) Perfil de formação de P-Leu Ep 3. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

A Figura 38A mostra um aumento da corrente de pico na presença de AuNPs (GCE/rGO/Au), influenciando o aumento de condutividade causado pelas propriedades combinadas do rGO e das AuNPs. Quando o monômero L-Leu é adicionado na célula eletroquímica, observa-se uma diminuição da intensidade no processo de oxidação, sugerindo sua participação no processo eletroquímico e a interação das espécies oxidáveis durante a formação do filme polimérico.

Na Figura 38B é apresentado o perfil de eletropolimerização na presença de X3OS, onde é possível observar a diminuição progressiva da corrente de pico a cada novo ciclo voltamétrico. Esse comportamento é atribuído à formação do filme polimérico impresso, que recobre gradualmente a superfície do eletrodo ao longo dos ciclos, promovendo a diminuição da transferência eletrônica.

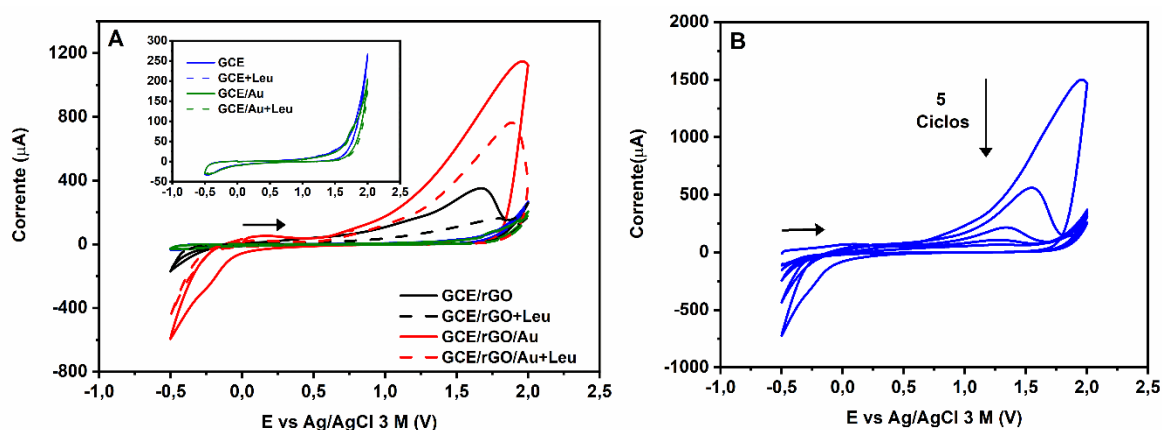


Figura 38: Estudo da eletropolimerização de L-Leu. A) CVs a 100 mV s^{-1} para as diferentes superfícies na presença e ausência de L-Leu; $[\text{L-Leu}] = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{PB}] = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. B) CVs do perfil final de eletropolimerização de L-Leu na presença de X3OS. $[\text{L-Leu}] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{X3OS}] = 1,0 \times 10^{-6}$; $[\text{PB}] = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ mol L^{-1} pH 6. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Um esquema de mecanismo foi proposto com base nas informações apresentadas na Figura 38 e em dados disponíveis na literatura, sendo mostrado na Figura 39. Inicialmente, ocorre a formação dos radicais amino ($\cdot\text{NH}$) pela aplicação de potencial elétrico na célula eletroquímica com a CV, na faixa de potencial de $-0,5$ a $2,0 \text{ V}$ [204,205]. Em seguida, os radicais formados reagem com outras moléculas de L-Leu, que apresentam um bom grupo de saída (H_2O^+) em função do pH do meio (~ 6). Esse comportamento é atribuído pelo fato de o pH experimental estar próximo do ponto isoelétrico da L-Leu ($\text{pI} = 5,9$), valor calculado a partir de seus dois valores de

pKa ($pK_{a1} = 2,33$ e $pK_{a2} = 9,74$), que favorece a ativação eletroquímica da molécula e o início do processo de polimerização[70]. Essa reação se repete ao longo dos ciclos de aplicação do potencial elétrico, resultando na formação de um filme polimérico de L-Leu na presença de X3OS, que permanece ancorado na superfície do eletrodo.

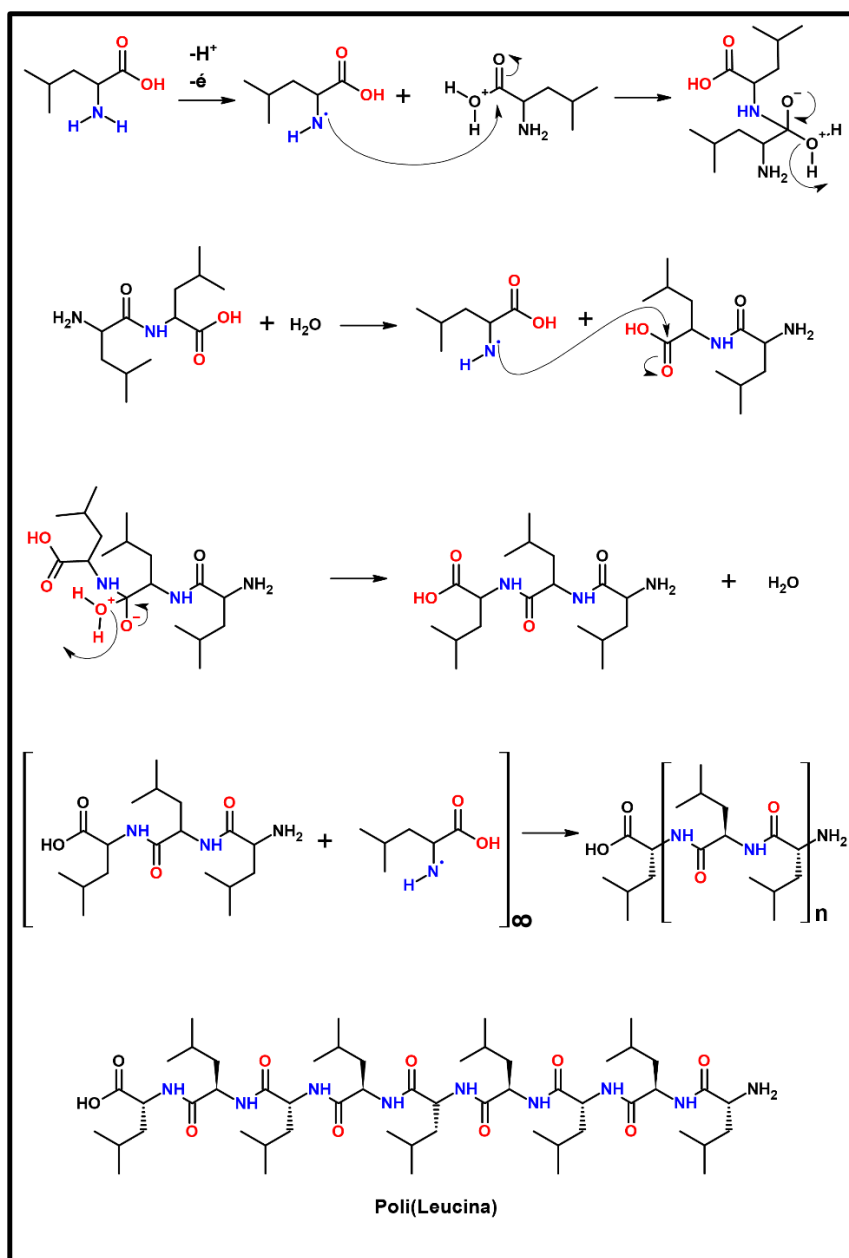


Figura 39: Ilustração do mecanismo de eletropolimerização da L-leucina. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.17 Estudo de extração

Um estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a metodologia mais eficiente para a extração do X3OS e consequente formação de cavidades específicas no MIP. Inicialmente, o etanol, o ácido acético e a acetonitrila foram testados, sendo o etanol o mais eficiente. Além disso, foram investigadas duas formas: extração química por etanol e extração eletroquímica em NaOH (Figura 40). Na extração por etanol, foi utilizado 10 mL de solvente, onde o processo de religação foi realizado em uma solução contendo $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ do X3OS em tampão fosfato (PB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. O sensor foi imerso com agitação por 5 minutos para a etapa de extração e por 10 minutos para a etapa de religação.

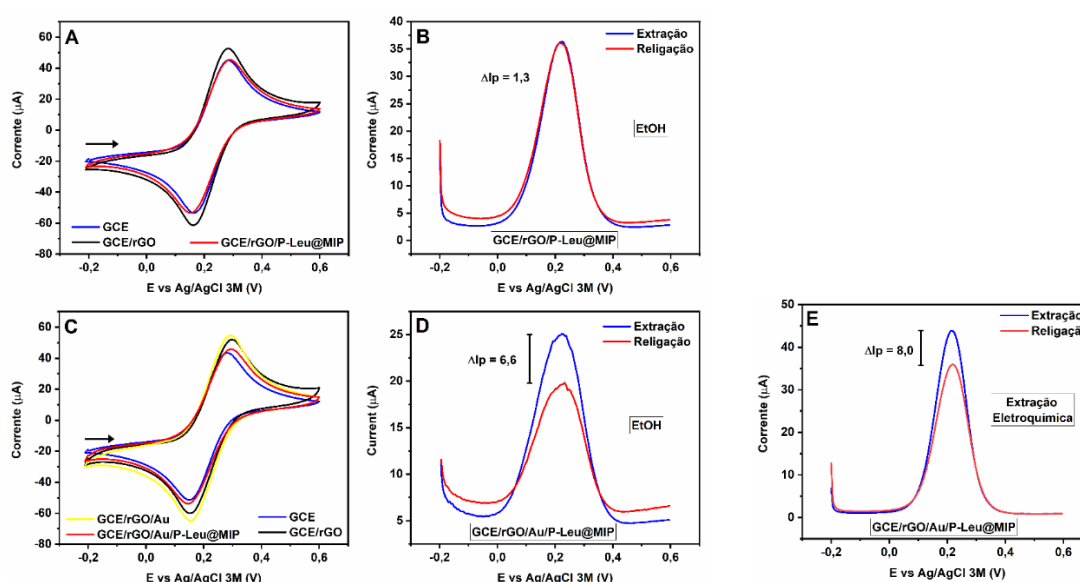


Figura 40: Estudo extração da molécula molde (X3OS) da matriz polimérica P-Leu. A e C) CVs para diferentes superfícies B) DPVs para a extração por etanol sensor GCE/rGO/P-Leu@MIP. D) DPVs para a extração por etanol sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP. E) DPVs para a extração eletroquímica sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP. [L-Leu] = $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [X3OS] = $1,0 \times 10^{-6}$; [PB] = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ mol L^{-1} pH 6. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Com o objetivo de confirmar a importância das AuNPs no sensor, realizou-se um estudo comparativo utilizando apenas a extração por etanol nas superfícies com e sem AuNPs (GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP e GCE/rGO/P-Leu@MIP). Os resultados mostram que a presença de AuNPs promoveu um aumento significativo na resposta eletroquímica, indicado pela variação da corrente de pico (ΔI_p), que passou de $1,3 \times$

10^{-6} A para $6,6 \times 10^{-6}$ A (Figura 40 B e C). Esse aumento pode ser atribuído à maior condutividade elétrica, maior área superficial efetiva e maior velocidade de transferência de carga atribuídas pelas AuNPs, além da possível melhoria na organização estrutural do filme polimérico.

Para a extração eletroquímica foi utilizada uma solução de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando a voltametria cíclica no intervalo de potencial de 0,0 a 1,8 V, com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . Quando comparada à extração por etanol, a metodologia eletroquímica apresentou maior valor de ΔI_p , indicando maior eficiência na remoção do molde e na formação das cavidades específicas Figura 40 E. Esse tipo de extração é amplamente relatado na literatura, sendo baseado na superoxidação do filme polimérico em meio fortemente alcalino.

Apesar da maior eficiência inicial, verificou-se que o uso repetido da extração eletroquímica em NaOH causava a degradação estrutural do filme, resultando na ruptura e no descolamento parcial ou total da modificação aderida na superfície do GCE. Esse efeito comprometeu a estabilidade mecânica e a reprodutibilidade do sensor. Portanto, considerando o equilíbrio entre eficiência de extração e estabilidade do dispositivo, foi mantida a extração por etanol como metodologia padrão, por apresentar melhor preservação estrutural e maior durabilidade do sensor ao longo dos ciclos.

4.18 Caracterização microscópica do GCE/rGO/Au@poli(Leu)

A morfologia de cada etapa de modificação do sensor foi investigada utilizando a microscopia eletrônica de varredura (SEM). As imagens foram obtidas com uma ampliação de 10.000 vezes, uma energia de feixe de 5 kV, e juntamente com as análises de espectroscopia por energia dispersiva de raios X (EDS) (Figura 41). A Figura 41A apresenta a superfície do GCE limpo, mostrando uma superfície lisa, homogênea, sem a presença de modificações ou impurezas, com detecção apenas do carbono (C) no espectro de EDS. Figura 41B mostra a presença de folhas de rGO sobre o GCE, mostrando que o processo de eletrorredução do GO foi bem-sucedido na formação do GCE/rGO. Essa modificação é confirmada pelo aparecimento do pico de oxigênio (O) no espectro de EDS.

Na Figura 41C, foi observado a formação de AuNPs sobre as folhas de rGO antes eletroreduzidas, onde foram confirmadas pela presença do pico característico de ouro no espectro de EDS. A partir dessa imagem, foi realizado o cálculo do tamanho médio de NPs, estimado em aproximadamente 45 nm, considerando uma amostragem de 100 partículas. A Figura 41D apresenta a morfologia do filme polimérico eletrossintetizado de P-Leu na presença do analito X3OS, correspondente ao sensor impresso molecularmente (GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP). A Figura 41E mostra a morfologia do filme não impresso (NIP), utilizado como controle (GCE/rGO/Au/P-Leu@NIP), no qual ainda é possível observar as folhas de rGO e as AuNPs. Em comparação com o MIP, nota-se uma menor intensidade do pico de oxigênio no espectro de EDS, o que pode estar relacionado à diferença na composição química do filme, uma vez que, no MIP, há a contribuição adicional de oxigênio proveniente tanto da P-Leu quanto da X3OS.

O pico correspondente ao nitrogênio (N) não é observado nos espectros de EDS, o que pode ser atribuído à sua baixa proporção atômica em relação ao carbono e ao oxigênio, além das limitações de resolução da técnica, bem como à proximidade energética entre os picos de N e C. As morfologias observadas apresentam diferenças compatíveis com cada etapa de modificação do sensor, corroborando a formação sucessiva das superfícies preparadas. Não foram detectados picos residuais de sódio (Na), utilizado na suspensão de GO (Na_2SO_4), nem de fósforo (P) ou enxofre (S), provenientes dos eletrólitos de suporte empregados durante as etapas de modificação. As folhas de rGO e as AuNPs encontram-se bem definidas e distribuídas em todas as superfícies modificadas, exceto no GCE limpo.

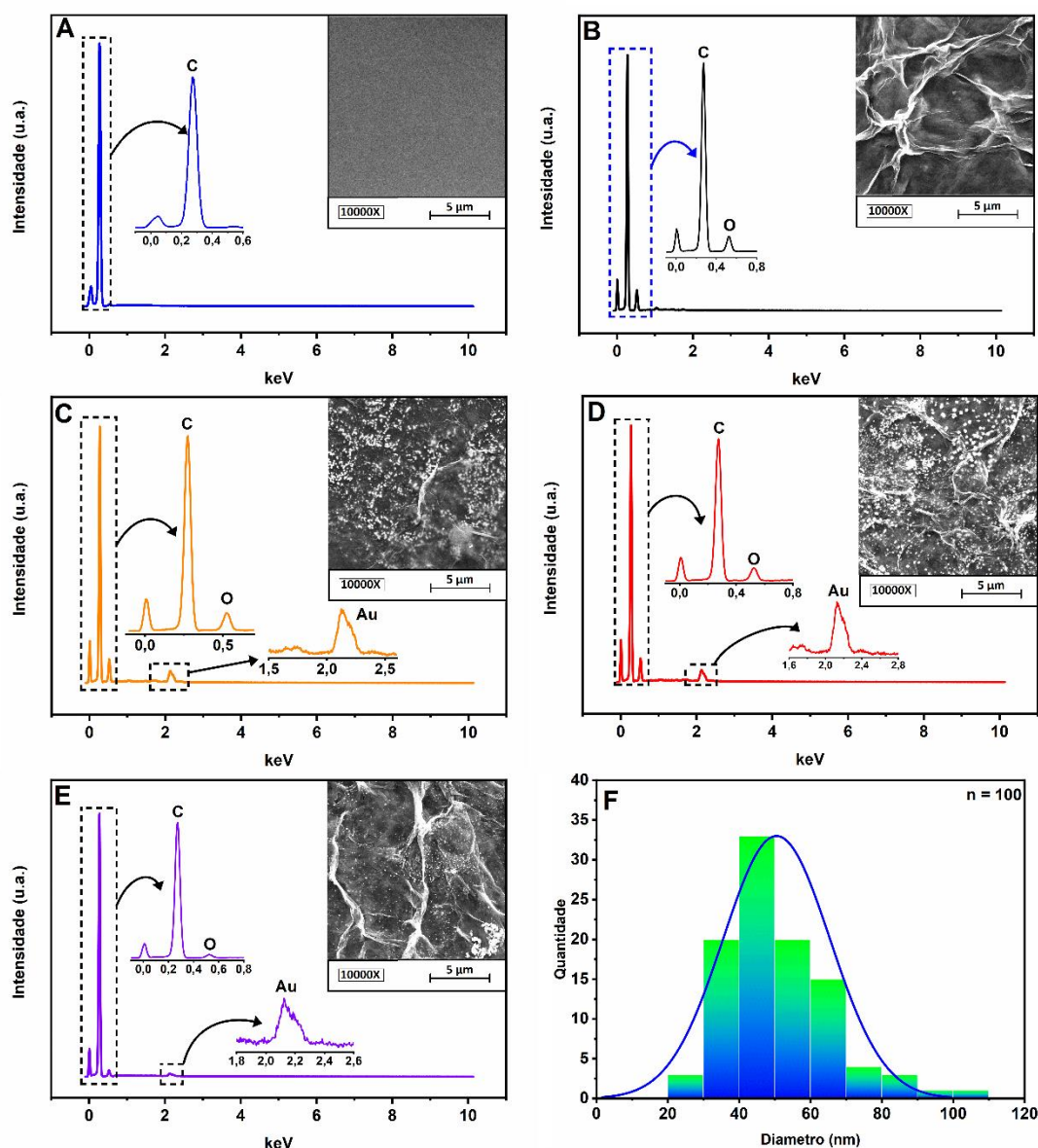


Figura 41: Análises MEV e EDS para A) GCE. B) GCE/rGO. C) GCE/rGO/Au. D) GCE/rGO/Au@MIP. E) GCE/rGO/Au@NIP. F) Histograma de tamanho das AuNPs. **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.19 Caracterização eletroquímica

A EIS juntamente com a CV foram empregadas para confirmar as modificações de cada etapa da construção do sensor. Uma solução de ferricianeto e ferrocianeto de potássio $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ cada, em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 42). As diferentes etapas foram comparadas em termos de R_{ct} , extraída do diagrama de Nyquist ajustado com o circuito equivalente de Randles. O circuito apresenta uma resistência da solução (R_s), uma capacitância de dupla camada elétrica (C_{dl}) um elemento de fase

constante (CPE), uma resistência de transferência de carga (R_{ct}) e um elemento de difusão de Warburg (W) [182].

Analisando os resultados da CV juntamente com os valores de R_{ct} (Figura 42 e Tabela 23), observou-se um aumento na corrente com a adição da camada de rGO (—) em relação ao controle GCE (—), um fenômeno relacionado às propriedades de condutividade do rGO, que diminui o R_{ct} de 23,6 Ω para 4,1 Ω . Com a adição das AuNPs (—) houve um pequeno incremento de corrente e resistência permaneceu em 5,6 Ω . Em seguida, com a formação do MIP (—), ocorre uma queda acentuada na corrente e o valor de R_{ct} sobe para 146,9 Ω devido à adição da camada de filme polimérico de L-Leu e X3OS. Em relação ao controle NIP (—) a condutividade é maior que o MIP e semelhante as GCE em termos de corrente, com relação à R_{ct} 121,8 Ω menor que o MIP indicando que o NIP possui maior velocidade de transferência de elétrons interfaciais. Após a extração e formação das cavidades específicas do X3OS (—), a corrente sobe novamente quando comparado com o MIP e o valor de R_{ct} diminui para 87,8 Ω . Isso ocorre devido ao maior acesso da sonda eletroquímica à superfície do eletrodo através das cavidades formadas. Quando o analito é religado à sua cavidade (—), a corrente diminui em relação à extração e R_{ct} aumenta para 196,9 Ω . Podemos concluir com esses resultados a eficiência na obtenção das etapas envolvidas na construção do sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP, mostrando a variação da resistência de transferência eletrônica e intensidade de corrente a cada nova etapa.

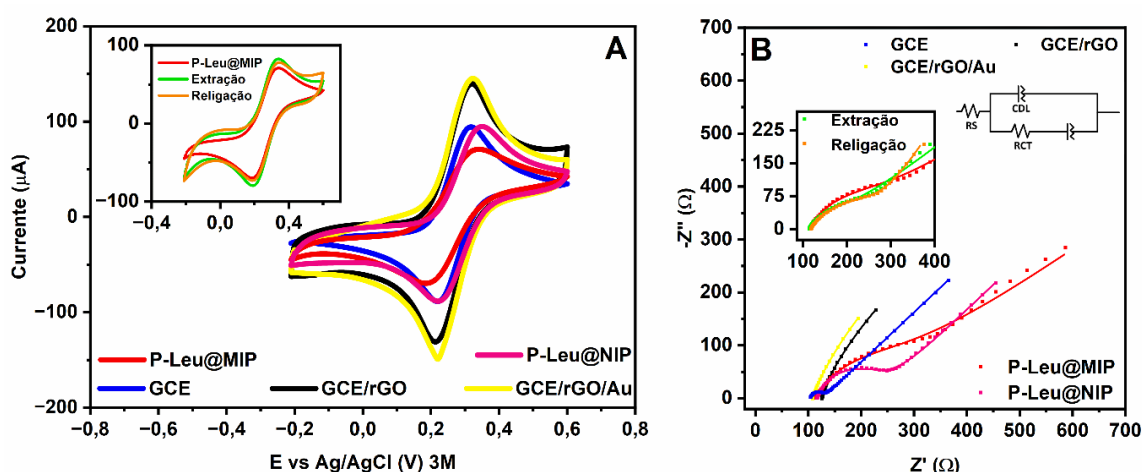


Figura 42: A) CVs para as etapas de formação de GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP; 100 mV s⁻¹; $K_3[Fe(CN)_6] = 5,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ [KCl] = 0,5 mol L⁻¹. B) Diagrama de Nyquist para cada etapa na Figura A (linhas contínuas são ajustes). **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Tabela 23: Valores de R_{ct} obtidos a partir do ajuste do diagrama de Nyquist para o sensor de X3OS.

Eletrodo	R_{ct} (Ω)
GCE	23,6
GCE/rGO	4,1
GCE/rGO/Au	5,6
GCE/rGO/Au@MIP	146,9
GCE/rGO/Au@NIP	121,8
GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP – Extração	87,8
GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP – Religação	196,9

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Usando CV juntamente com a equação de Randles-Sveick (Equação 4), as áreas eletroativas de ambos os eletrodos de trabalho (GCE, GCE/rGO, GCE/rGO/Au e GCE/rGO/Au@MIP) foram calculadas conforme mostrado na Figura 43 e nos dados da Tabela 24. Para o cálculo das áreas, o estudo foi realizado em velocidades de 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 e 300 mV s^{-1} , com os valores de inclinação I_p vs. $v^{1/2}$ descritos na Tabela 24. Usando esses valores, a área eletroativa dos eletrodos de trabalho foi determinada. Essas áreas são: 5,1; 8,4; 9,3 e $5,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ para GCE, GCE/rGO, GCE/rGO/Au e GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP, respectivamente. A partir desses valores, é possível concluir que a resposta eletroquímica da sonda de ferricianeto de potássio é significativamente influenciada pela superfície do eletrodo de trabalho, resultando em um aumento de 8,4 cm^2 na presença de rGO e 9,3 cm^2 na presença de AuNPs frente 5,1 cm^2 ao GCE. Este resultado sugere uma melhoria na sensibilidade do eletrodo preparado, estando de acordo com outros resultados da literatura [183].

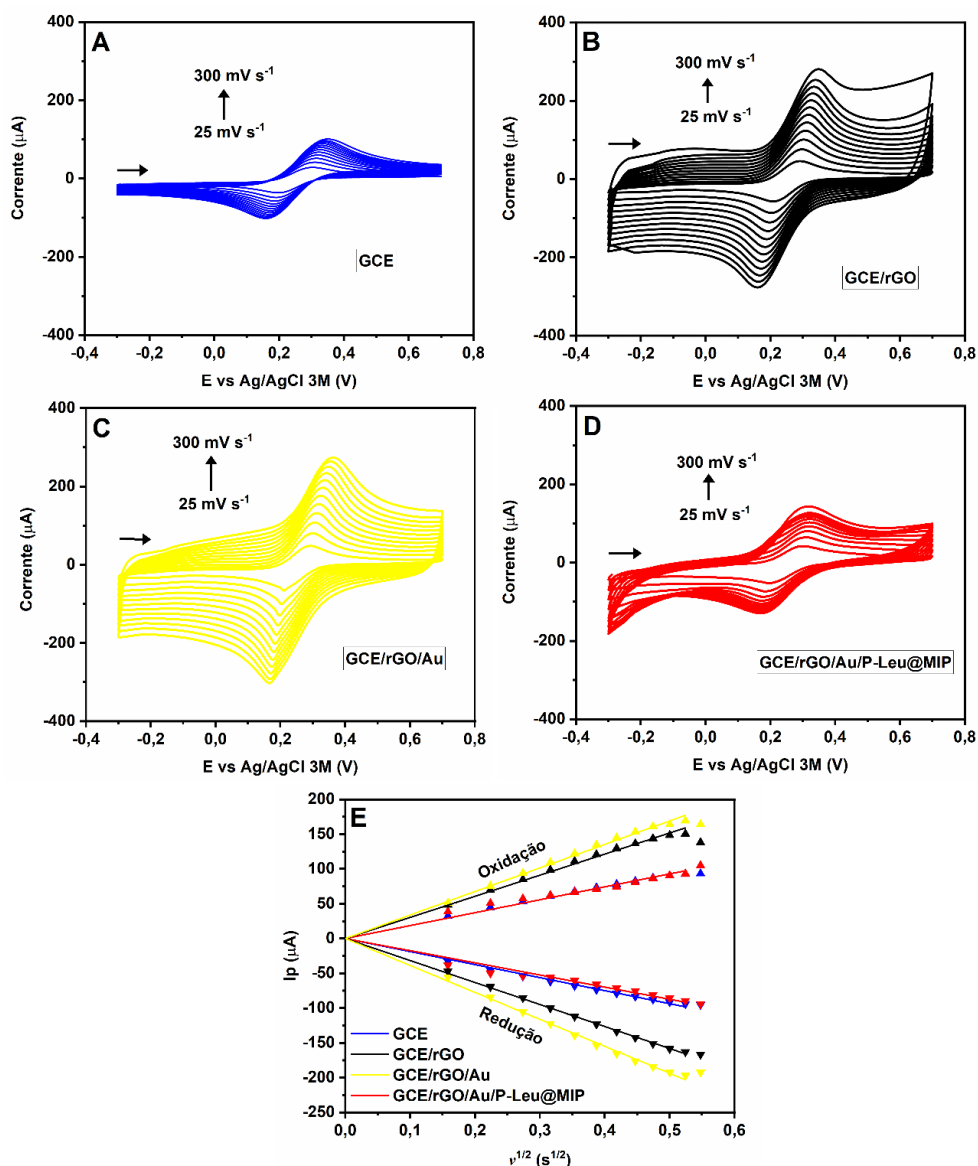


Figura 43: CVs obtidos para $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. A) GCE. B) GCE/rGO. C) GCE/rGO/Au. D) GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP. E) I_p vs. $v^{1/2}$, GCE (azul), GCE/rGO (preto), GCE/rGO/Au (Amarelo) e GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP (vermelho). $v = 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275$ e 300 mV s^{-1} . **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Tabela 24: Valores da área eletroativa para GCE e GCE/rGO, GCE/rGO/Au e GCE/rGO/Au@MIP por estudo de velocidade.

Eletródo	Inclinação ($\mu\text{A V}^{-1/2} \text{s}^{1/2}$)	Área (10^{-2} cm^2)
GCE	185,7	5,1
	-187,2	5,2
GCE/rGO	303,3	8,4
	-315,9	8,7
GCE/rGO/Au	337,9	9,3
	-387,2	10,7
GCE/rGO/Au@MIP	185,7	5,1
	-174,5	4,8

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.20 Otimização de parâmetros

Para melhorar o desempenho analítico do sensor e-MIP destinado à determinação de X3OS, alguns parâmetros foram estudados a fim de alcançar maior sensibilidade, ou seja, uma maior diferença na corrente medida através da sonda eletroquímica (ΔI_p). Entre os parâmetros, foram avaliados: razão monômero/analito; número de ciclos de eletropolimerização; tempos de extração e religação do analito. Esses parâmetros estão diretamente relacionados à formação de cavidades específicas para o analito e à sua detecção (Figura 44).

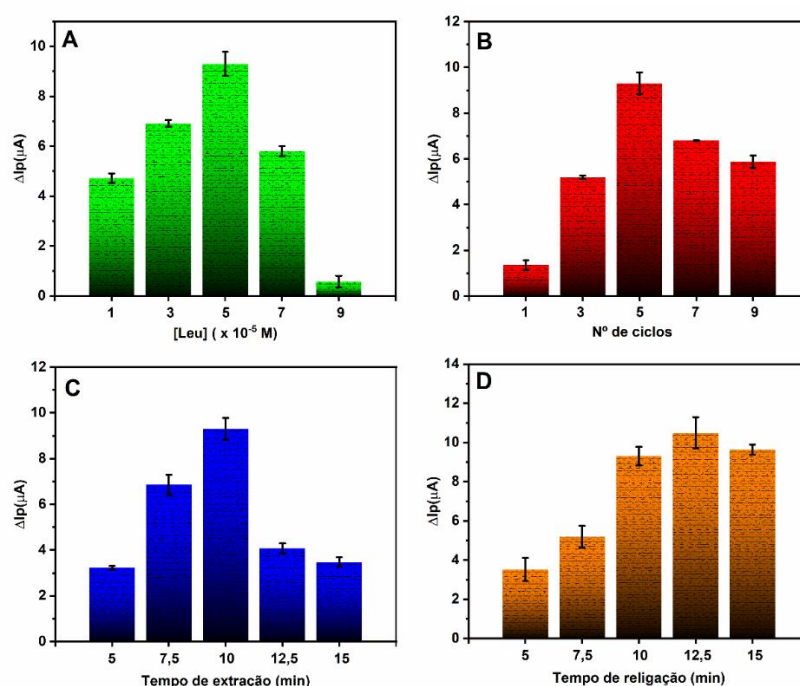


Figura 44: Otimização dos parâmetros do sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP. A) Concentração de L-Leu; fixa: $[X3OS] = 1,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} . B) Número de ciclos de eletropolimerização. C) Tempo de extração em etanol. D) Tempo de religação em solução $[X3OS] = 0,5 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} . **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

4.20.1 Número de ciclos e concentração de X3OS

A razão monômero/analito foi o primeiro parâmetro avaliado. Uma concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} de X3OS foi fixada, variando-se apenas a concentração de L-Leu ($1,0 \times 10^{-5}$ – $100,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}), sendo a quantidade ideal $50,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} (Figura 44A). Concentrações muito baixas de L-Leu não são suficientes para a formação de um número maior de cavidades, causando menor valor de ΔI_p . Com a adição de L-Leu após o ponto máximo, houve uma queda no sinal, que

pode estar associada à proporção entre monômero e analito, diminuindo o número de cavidades específicas do analito, gerando poucas cavidades específicas. O número de ciclos, que está diretamente relacionado à espessura do filme e, conseqüentemente, ao número de cavidades formadas, também foi avaliado. A Figura 44B mostra um aumento no sinal até 5 ciclos, com quedas acentuadas em ΔI_p após esse número de ciclos. Isso pode estar associado à formação de um filme muito espesso após o quinto ciclo [183].

4.20.2 Tempos de extração e religação

Os parâmetros de tempo de extração e religação estão diretamente relacionados à detectibilidade do analito nas cavidades. A extração foi realizada em uma solução de etanol com agitação, variando o tempo de processo de 5 a 15min. O uso de solventes orgânicos é amplamente utilizado e descrito na literatura, pois solubiliza o analito removendo-o da cavidade [185]. Na Figura 44C, observa-se um decaimento no sinal, sendo 10min o tempo de extração ideal. Esse decaimento pode estar associado à degradação da cavidade ou mesmo do filme, causando diminuição número de cavidades religadas, conseqüentemente, maior acesso pela sonda.

O estudo do tempo de religação foi realizado em uma solução de X3OS $0,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sob agitação, variando o tempo de processamento de 5 a 15min (Figura 44D). Há um aumento no sinal até 10min de religação e, após esse tempo, não houve variação significativa em ΔI_p . Isso pode indicar o preenchimento do número de cavidades formadas na etapa de impressão molecular, atingindo o equilíbrio de adsorção do analito com o número cavidade disponíveis. Esses dois parâmetros avaliados corroboram a confirmação da formação dos sítios ativos específicos do X3OS.

4.21 Curva analítica

Uma curva de calibração foi construída após a otimização dos parâmetros do sensor, utilizando a DPV e variando a concentração de X3OS na solução de religação. Nessas condições, as figuras de mérito foram obtidas a partir da Figura 45, onde a faixa de concentração estudada foi de $0,5 \times 10^{-14} - 9,0 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$. Duas regiões de linearidade foram observadas, a primeira faixa sendo de $0,5 \times 10^{-14}$ a $4,0 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$, com equação (8) e R^2 de 0,999. Essa quebra na linearidade ocorre devido à

difficuldade de acoplamento das moléculas nas cavidades formadas mais internamente, combinada com maior adsorção não específica do analito na superfície do sensor, sendo que as cavidades mais externas e mais disponíveis são preenchidas primeiro, sendo esse perfil característico de sensores do tipo MIP [119,191]. A sensibilidade foi de $8,23 \mu\text{A}/\text{pmol L}^{-1}$ ($S = 8,23 \times 10^8 \text{ A}\cdot\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$) e os limites de detecção e quantificação da curva foram de $1,4 \times 10^{-15}$ e $4,7 \times 10^{-15} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente ($n = 3$).

$$\Delta I_p = 8,23 + 2,40 [X3OS] \quad \text{Equação (8)}$$

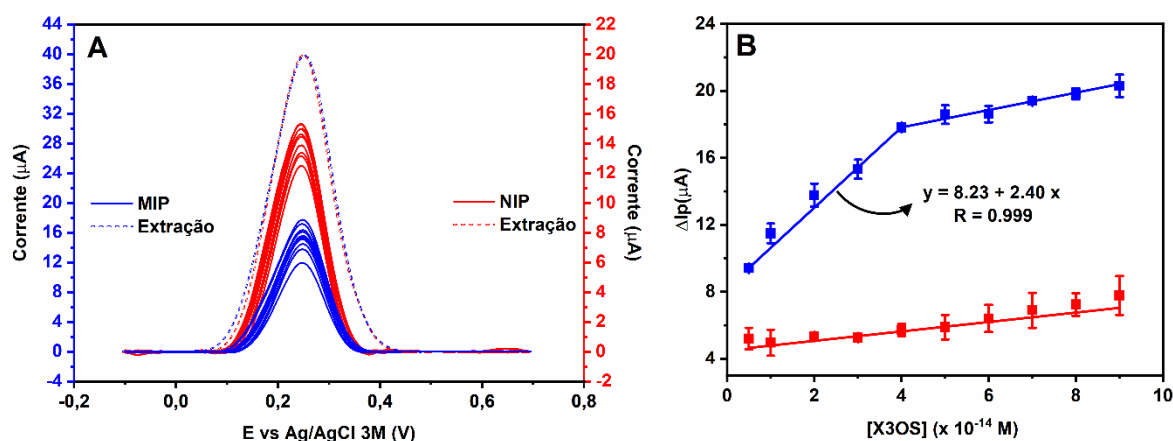


Figura 45: A) Curva de calibração com DPVs na faixa de $0,5 \times 10^{-14} - 9,0 \times 10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$ para MIP e NIP. B) variação de I_p em função da concentração para MIP e NIP, ($n = 3$). **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

O sensor eletroquímico desenvolvido apresenta vantagens importantes em relação aos métodos cromatográficos tradicionais descritos na literatura para a determinação de XOS, como aqueles reportados na Tabela 25. Uma dessas vantagens e principal é a elevada sensibilidade amperométrica ($S = 8,23 \times 10^8 \text{ A}\cdot\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$), tendo o sensor um limite de detecção na ordem de $10^{-10} \text{ mg L}^{-1}$, enquanto métodos cromatográficos baseados em HPAEC-PAD ou LC-MS geralmente apresentam limites de detecção na faixa $10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$. Essa diferença representa um ganho de várias ordens de magnitude, permitindo a detecção de concentrações ultrabaixas de xilotriose, ampliando o potencial de aplicação do sensor onde o analito está presente em níveis extremamente baixos. Outro ponto importante é que o sensor apresenta menor tempo de análise, simplicidade experimental e menor custo

instrumental frente às técnicas cromatográficas, que utilizam equipamentos de alto custo, muito preparo de amostra, além de etapas de separação.

Tabela 25: Comparação dos métodos de quantificação de XOSs.

Metodologia analítica	Faixa linear (mg L ⁻¹)	LD (mg L ⁻¹)	AS A (mol ⁻¹ L)	Ref
HPAEC-QqQ-MS	~0,01 – 10,00	0,001	---	[206]
HPAEC-PAD	~0,05 – 50,00	0,050	---	[207]
HPAEC-PAD	~0,10 – 20,00	~0,100 (X2–X5)	---	[208]
GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP	$2,07 \times 10^{-9} - 3,73 \times 10^{-8}$	$5,80 \times 10^{-10}$	$8,23 \times 10^8$	Este trabalho

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.22 Seletividade

As cavidades geradas para o X3OS foram avaliadas em termos de seletividade por meio de um estudo com outros compostos interferentes. Os compostos escolhidos foram Xilobiose (X2OS), Frutose, Glicose, Arabinose e Xilose, todos na concentração de $0,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Para o estudo, o sensor foi produzido normalmente, alterando-se apenas a solução de religação que continha um dos interferentes listados. O controle (NIP) também foi investigado. Os resultados são mostrados na Figura 46, onde é possível observar que apenas o X3OS apresentou uma variação significativa em termos de ΔI_p em comparação com o controle, com valores de 11,0 e 1,4 μA , respectivamente. Isso demonstra que a cavidade é específica para o analito estudado e que os outros compostos não se ligam às cavidades produzidas. Embora as moléculas sejam estruturalmente semelhantes, existem pequenas diferenças nas ligações saturadas de Carbono, estereoquímica e nas quantidades de carbono, o que é suficiente para impedir o acoplamento nas cavidades geradas, uma vez que elas não são complementares em tamanho, forma e interações.

Outras informações obtidas da Figura 46 são os dados apresentados na Tabela 7, onde os parâmetros (α), referentes ao fator de impressão molecular, e (β), referentes ao fator de seletividade, foram calculados para o X3OS e os interferentes. As equações (6) e (7) são utilizadas para o cálculo de α e β , respectivamente.

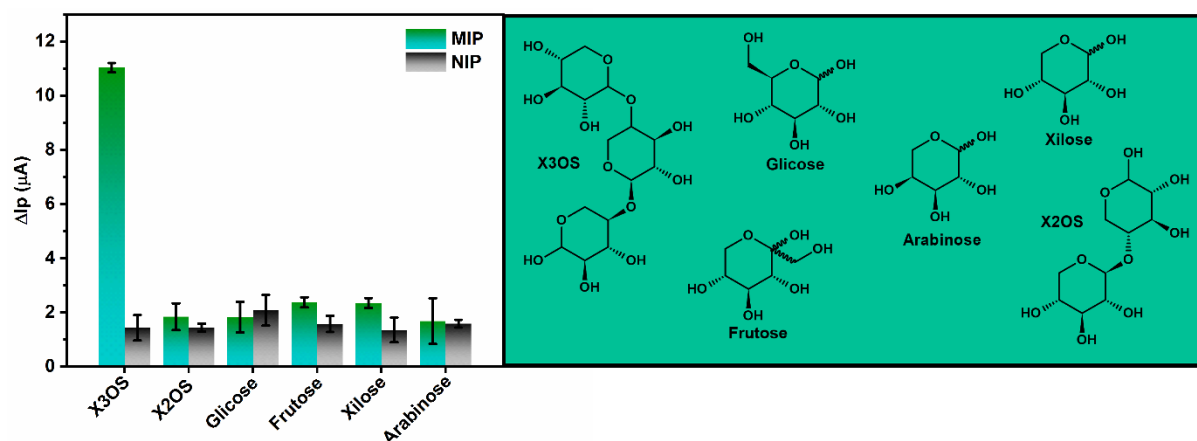


Figura 46: Estudo de seletividade de cavidade com impressão molecular de X3OS para o MIP e NIP ($n = 3$). **Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

Tabela 26: Valores dos parâmetros de seletividade α e β do GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP.

Molécula	ΔI_p MIP (μA)	ΔI_p NIP (μA)	α	β
X3OS	11,0	1,4	3,1	---
X2OS	1,8	1,4	1,3	2,4
Glucose	1,8	2,1	0,9	3,4
Frutose	2,4	1,6	1,5	2,1
Xilose	2,3	1,3	1,8	1,7
Arabinose	1,7	1,6	1,1	2,8

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Para α , o maior valor foi 3,1 para o X3OS e inferior a 1,8 para os demais interferentes. Isso indica que as cavidades formadas possuem maior capacidade de interação com o X3OS pelo efeito de impressão molecular [82,96]. Para β , os valores encontrados demonstram maior capacidade seletiva para o X3OS; consequentemente, os sítios ativos apresentam uma orientação espacial mais favorável para o analito, em detrimento dos demais compostos [82,96].

4.23 Aplicação e recuperação em amostras de X3OS

O sensor desenvolvido foi aplicado em amostras contendo concentrações desconhecidas de XOS que foram produzidas por via enzimática. Uma alíquota da

amostra foi previamente diluída até a faixa de trabalho do sensor ($0,5 \times 10^{-14}$ a $4,0 \times 10^{-14}$ mol L⁻¹) e posteriormente quantificada (Tabela 27). A concentração determinada na solução diluída foi de $3,30 \times 10^{-14}$ mol L⁻¹, que corresponde a $9,90 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de X3OS na amostra total. Esses resultados mostram que o método proposto pode ser utilizado para a determinação de X3OS em amostras reais.

O eletrodo GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP foi utilizado para avaliar as taxas recuperação do analito pelo método de adição padrão, com o intuito de minimizar possíveis efeitos da matriz (Figura 47 e Tabela 27). Quantidades conhecidas do padrão analítico de X3OS ($1, 2$ e 3×10^{-14} mol L⁻¹, denominadas P1, P2 e P3, respectivamente) foram adicionadas às amostras, e depois analisadas na célula eletroquímica, sendo obtidas as curvas voltamétricas da Figura 47. As recuperações obtidas variaram entre 99,80% e 101,97%, com DPR inferior a 6,35% (Tabela 27), mostrando a elevada precisão e confiabilidade do método proposto.

Para validar os resultados obtidos pelo método analítico proposto utilizando GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP, foram utilizados o teste t de Student e o teste F, com nível de confiança de 95%, para realizar uma análise estatística comparativa com os dados obtidos por HPLC (Tabela 28). O teste t indicou que não houve uma diferença significativa entre os valores médios obtidos pelos métodos, o valor de t calculado (0,23) foi inferior ao valor crítico (2,78, 95% de confiança), o que mostra a exatidão da metodologia do sensor desenvolvido. O teste F mostra que houve uma diferença significativa entre as variâncias ($F_{\text{calculado}} = 23,9 > F_{\text{crítico}} = 19,0$), o que indica que os métodos apresentam precisões distintas. Nesse contexto, o sensor MIP demonstrou menor variabilidade experimental, evidenciando melhor repetibilidade em comparação ao HPLC. Esses resultados confirmam que o sensor desenvolvido apresenta desempenho analítico comparável em termos de exatidão, aliado a uma superior precisão, destacando seu potencial como alternativa confiável para a determinação do analito em estudo.

Tabela 27: Quantidades adicionadas e encontradas, desvios padrão relativos e taxas de recuperação (n = 3).

Amostra	Adicionado (10^{-14} mol L $^{-1}$)	Encontrado (10^{-14} mol L $^{-1}$)	Recuperado (%)	DPR (%)
X3OS	---	3,30	---	---
	1,00	0,99	99,80	0,11
	2,00	2,04	101,87	6,35
	3,00	3,06	101,97	3,22

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

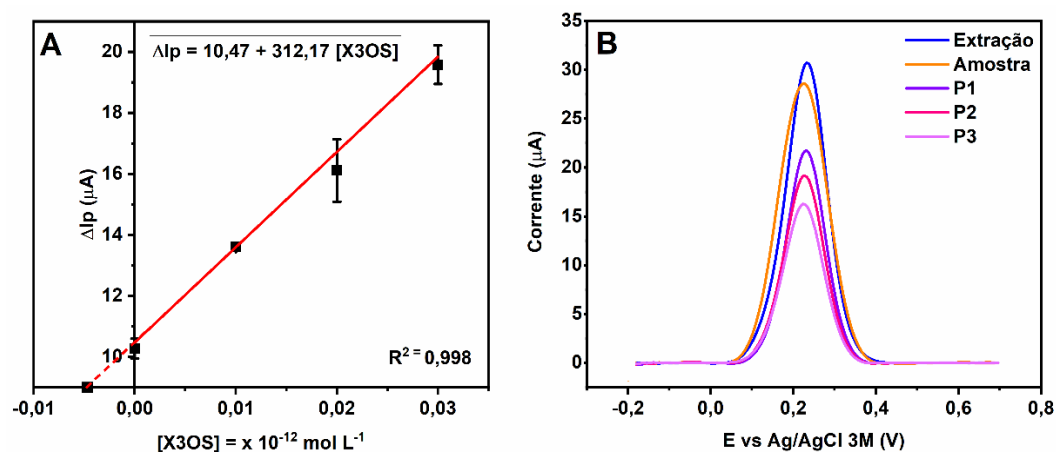


Figura 47: A) Curva de adição padrão obtida pela aplicação à amostra. B) Voltamogramas de pulso diferencial (DPV) obtidos para a etapa de extração, adição da amostra e adição do padrão (P1, P2 e P3). Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Tabela 28: Comparação estatística entre métodos HPLC e o sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP.

Amostra	HPLC ($\times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$)	Sensor MIP ($\times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$)	Teste F		Teste t	
			F_{calc}	F_{crit}	t_{calc}	t_{crit}
X3OS	$9,81 \pm 0,84$	$9,92 \pm 0,17$	23,9	19,0	0,23	2,78

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.24 Avaliação da repetibilidade e estabilidade do GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP

A repetibilidade e a estabilidade do sensor foram avaliadas utilizando sonda eletroquímica de ferricianeto de potássio $5,0 \times 10^{-3}$ mol L $^{-1}$ em KCl 0,5 mol L $^{-1}$ na determinação de X3OS ($0,5 \times 10^{-7}$ mol L $^{-1}$). Para o estudo de repetibilidade, 7 eletrodos de trabalho GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP foram desenvolvidos e testados (Figura 48A), onde a resposta média foi de aproximadamente 13,7 μA de ΔI_p com um

DPR de 3,4%, mostrando que a metodologia de construção do sensor é repetível e com mínima variação de sinal. Em relação à estabilidade intradia, medições consecutivas (ciclos de extração/religação) foram realizadas com o mesmo GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP (Figura 48B), onde o ΔI_p inicial foi de aproximadamente 12,8 μA . Como resultado, o GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP preservou o sinal até o segundo ciclo, caindo para 2,7 μA no terceiro ciclo, o que demonstra que o mesmo sensor pode ser reutilizado pelo menos duas vezes, mantendo uma resposta analítica aceitável.

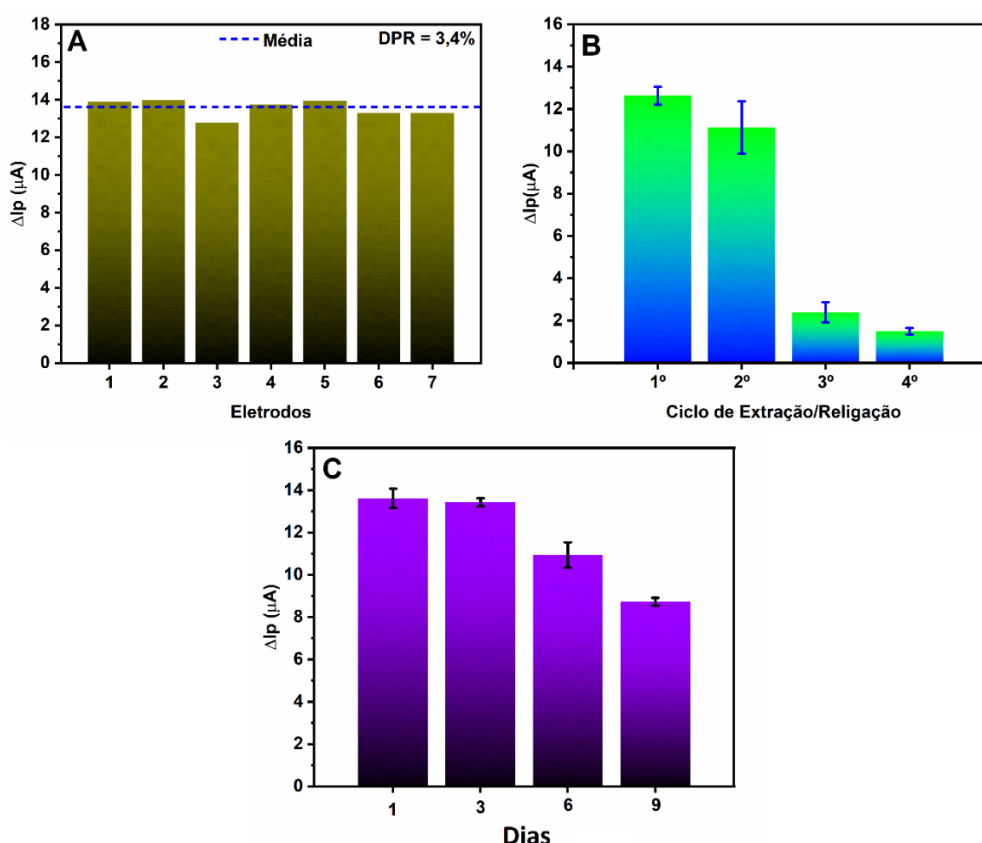


Figura 48: A) Estudo de repetibilidade do sensor GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP, $n = 7$. B) Estudo de estabilidade intra-dia, $n = 3$. C) Estudo de estabilidade interdiária, $n = 3$. Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Ao avaliar a estabilidade interdia, onde o mesmo dispositivo é armazenado à temperatura ambiente (25 °C), na mesma solução de medida (sonda eletroquímica) na ausência de luz e testado em dias diferentes, observou-se estabilidade aceitável até o 6 dia, perdendo muito a resposta após esse período (Figura 48C), indicando uma degradação do filme MIP. Embora o analito sendo muito solúvel no solvente utilizado, o etanol ainda pode ter um impacto significativo na estabilidade do filme polimérico (MIP), especialmente após o processo de dessorção. Existem várias razões possíveis

para a degradação observada na cavidade ou mesmo no filme, como: Ruptura das redes de ligações de hidrogênio da matriz polimérica, enfraquecendo as interações intra e intermoleculares dentro do polímero; Efeito de intumescimento da matriz polimérica, onde a adição de etanol pode reduzir a polaridade da fase aquosa, alterando o ambiente de solvatação; alteração na energia superficial, onde a presença de etanol reduz a tensão superficial da mistura. Essa alteração pode afetar a adesão entre o filme MIP e o substrato, especialmente em sensores de filme fino, levando à delaminação ou fissuração após múltiplos ciclos de colagem e lavagem [193,194]. Esta última hipótese é a mais provável e pode ser observada no estudo de estabilidade intradia (Figura 48B), onde, após alguns ciclos, há uma diminuição na diferença de corrente inicial (ΔI_p).

4.25 Conclusão

Foi desenvolvido com sucesso um sensor eletroquímico do tipo e-MIP baseado na arquitetura GCE/rGO/Au/P-Leu@MIP, cuja construção envolveu a modificação da superfície do eletrodo rGO e AuNPs, seguida da eletropolimerização de L-leu na presença do X3OS. A caracterização morfológica e eletroquímica confirmou a formação das diferentes camadas do sensor e evidenciou melhorias na condutividade e transferência de carga decorrentes da presença combinada de rGO e AuNPs. Os estudos de otimização permitiram estabelecer condições experimentais ideais para formação das cavidades específicas e detecção do analito, demonstrando que parâmetros como razão monômero/analito, número de ciclos de eletropolimerização e tempos de extração e religação influenciam diretamente o desempenho analítico do sensor. Além disso, o sensor desenvolvido apresentou sensibilidade, baixo limite de detecção e alta seletividade para Xilotriose, sendo capaz de discriminar o analito mesmo na presença de compostos estruturalmente semelhantes, como xilobiose, glicose, frutose, arabinose e xilose. Esse comportamento confirma a eficiência da impressão molecular na formação de cavidades específicas complementares ao analito em tamanho, forma e interações químicas.

5 CONCLUSÃO GERAL

Os principais resultados deste trabalho mostraram o potencial dos MIPs baseados em PAAs como plataformas promissoras para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos altamente seletivos, sensíveis e alinhados aos princípios da química verde. A abordagem adotada integrou uma análise crítica da literatura com o desenvolvimento experimental de dispositivos inovadores, permitindo não apenas validar conceitos já estabelecidos, mas também avançar o estado da arte na área.

A revisão sistemática evidenciou que, embora os PAAs sejam amplamente explorados em sensores eletroquímicos, sua aplicação específica em sistemas MIPs ainda é relativamente limitada, com um número reduzido de estudos reportados. Essa lacuna destaca uma oportunidade significativa para o desenvolvimento de novos dispositivos, especialmente considerando a diversidade estrutural dos aminoácidos e suas múltiplas possibilidades de interação (ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e hidrofóbicas), fundamentais para a formação de sítios de reconhecimento seletivos. O trabalho pretende contribuir para o preenchimento dessa lacuna ao explorar diferentes PAAs em sensores MIP.

No desenvolvimento experimental, os sensores baseados em P-Gly e P-Leu, associados a materiais nanocarbonáceos e nanopartículas metálicas, apresentaram desempenho analítico superior. A incorporação de óxido de grafeno reduzido (rGO) e nanopartículas de ouro (AuNPs) promoveu melhorias significativas na área eletroativa, na condutividade elétrica e na transferência de carga, fatores essenciais para o aumento da sensibilidade dos dispositivos. A caracterização morfológica e eletroquímica confirmou a formação sucessiva e eficiente das camadas, evidenciando a robustez da estratégia de construção dos sensores.

Os estudos de otimização mostraram que parâmetros como número de ciclos de eletropolimerização, razão monômero/analito e condições de extração e religação são determinantes para a formação de cavidades altamente específicas. Esses fatores impactam diretamente o desempenho analítico, reforçando a importância do controle das condições experimentais no desenvolvimento de plataformas MIP.

Os dispositivos desenvolvidos apresentaram baixos limites de detecção ($2,1 \times 10^{-14}$ e $1,4 \times 10^{-15}$ mol L⁻¹), elevada sensibilidade amperométrica e excelente seletividade, sendo capazes de discriminar os analitos alvos dos principais interferentes de suas classes. No sensor para X3OS, por exemplo, foi possível

distinguir o analito de compostos como xilobiose, glicose, frutose, arabinose e xilose, confirmando a eficiência da impressão molecular na geração de sítios complementares em tamanho, que foram confirmadas pelos valores obtidos dos fatores de seletividade β , devido a forma e a funcionalidade química. Os estudos de repetibilidade e estabilidade indicaram desempenho consistente, embora tenham sido observadas limitações relacionadas à possível degeneração do filme após múltiplos ciclos, apontando desafios importantes para aplicações de longo prazo. A aplicação dos sensores em amostras reais demonstrou elevada exatidão, com taxas de recuperação próximas de 100% e concordância estatística com métodos cromatográficos, evidenciando a viabilidade prática das plataformas desenvolvidas para análise de bioprodutos em matrizes complexas.

Os resultados obtidos reforçam que os AAs constituem uma alternativa sustentável e altamente versátil aos monômeros sintéticos convencionais, permitindo a construção de MIPs com alto desempenho analítico e menor impacto ambiental. A integração com nanomateriais potencializa significativamente as propriedades eletroquímicas dos sensores, consolidando uma estratégia eficiente para o desenvolvimento de dispositivos de nova geração.

O trabalho contribui significativamente para o avanço da área ao: (i) expandir o conhecimento sobre o uso de PAAs em MIPs, (ii) propor novas arquiteturas de sensores eletroquímicos de alto desempenho e (iii) realizar aplicações voltadas à valorização de resíduos agroindustriais. Como perspectivas futuras, destacam-se a exploração de novos aminoácidos ainda não investigados, o aprimoramento da estabilidade dos filmes poliméricos e a integração desses sensores em sistemas portáteis para monitoramento em tempo real, ampliando seu potencial tecnológico e comercial.

6 REFERÊNCIAS

- [1] UNITED NATIONS. Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development. New York: United Nations, 2015. Disponível em: <https://https://sdgs.un.org/>. Acesso em: 26 de maio 2026.
- [2] FAO, Fruit and vegetables – your dietary essentials, FAO, 2020. <https://doi.org/10.4060/cb2395en>.
- [3] S.T. Mgeni, H.R. Mero, L.A. Mtashobya, J.K. Emmanuel, Utilizing fruit wastes as a sustainable feedstock for bioethanol production: A review, *Cleaner Energy Systems* 10 (2025) 100188. <https://doi.org/10.1016/j.cles.2025.100188>.
- [4] P. Costa, M. Basaglia, S. Casella, L. Favaro, Polyhydroxyalkanoate Production from Fruit and Vegetable Waste Processing, *Polymers (Basel)*. 14 (2022) 5529. <https://doi.org/10.3390/polym14245529>.
- [5] I. Yoshimura, J. Contiero, E. Déziel, Optimizing Rhamnolipid Biosynthesis: Evaluating Predictive Methods using *Pseudomonas aeruginosa* Mutants, (2026). <https://doi.org/10.64898/2026.01.15.699715>.
- [6] M.Y. Areeshi, Microbial cellulase production using fruit wastes and its applications in biofuels production, *Int. J. Food Microbiol.* 378 (2022) 109814. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109814>.
- [7] C. de Freitas, C.C. Terrone, F. Masarin, E.C. Carmona, M. Brienzo, In vitro study of the effect of xylooligosaccharides obtained from banana pseudostem xylan by enzymatic hydrolysis on probiotic bacteria, *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 33 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101973>.
- [8] C.M. Galanakis, Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications, *Trends Food Sci. Technol.* 26 (2012) 68–87. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.03.003>.
- [9] H.M.A. Shahzad, Z. Asim, S.J. Khan, F. Almomani, K.A. Mahmoud, M.R.U. Mustafa, K. Rasool, Thermochemical and biochemical conversion of agricultural waste for bioenergy production: an updated review, *Discover Environment* 2 (2024). <https://doi.org/10.1007/s44274-024-00171-w>.

- [10] Kavya, M. Vashisht, B. Jain, S. Shrivastava, Transforming waste into wealth: a review on microbial conversion of organic municipal wastes to value-added products, *Discover Environment* 2 (2024) 112. <https://doi.org/10.1007/s44274-024-00144-z>.
- [11] S.S. Sawant, H.-Y. Park, E.-Y. Sim, H.-S. Kim, H.-S. Choi, Microbial Fermentation in Food: Impact on Functional Properties and Nutritional Enhancement—A Review of Recent Developments, *Fermentation* 11 (2025) 15. <https://doi.org/10.3390/fermentation11010015>.
- [12] (FAO) (FAOSTAT), Food and Agriculture Organization , (n.d.).
- [13] (IBGE) –, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Produção Agrícola Municipal, PAM), (n.d.).
- [14] J. Parfitt, M. Barthel, S. Macnaughton, Food waste within food supply chains: quantification and potential for change to 2050, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365 (2010) 3065–3081. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0126>.
- [15] A.A. Kader, INCREASING FOOD AVAILABILITY BY REDUCING POSTHARVEST LOSSES OF FRESH PRODUCE, *Acta Hortic.* (2005) 2169–2176. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.682.296>.
- [16] K. Kohli, R. Prajapati, R. Shah, M. Das, B.K. Sharma, Food waste: environmental impact and possible solutions, *Sustainable Food Technology* 2 (2024) 70–80. <https://doi.org/10.1039/D3FB00141E>.
- [17] Y. Sun, J. Cheng, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresour. Technol.* 83 (2002) 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7).
- [18] A. Pandey, C.R. Soccol, P. Nigam, V.T. Soccol, Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse, *Bioresour. Technol.* 74 (2000) 69–80. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00142-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00142-X).
- [19] B. Kamm, P.R. Gruber, M. Kamm, eds., *Biorefineries-Industrial Processes and Products*, Wiley, 2005. <https://doi.org/10.1002/9783527619849>.
- [20] F. Cherubini, The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals, *Energy Convers. Manag.* 51 (2010) 1412–1421. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.01.015>.
- [21] *Bioreaction-Engineering-Principles*, (n.d.).

- [22] R. Liguori, V. Faraco, Biological processes for advancing lignocellulosic waste biorefinery by advocating circular economy, *Bioresour. Technol.* 215 (2016) 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.054>.
- [23] A.T. Ubando, C.B. Felix, W.-H. Chen, Biorefineries in circular bioeconomy: A comprehensive review, *Bioresour. Technol.* 299 (2020) 122585. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122585>.
- [24] J.D. Keasling, Manufacturing Molecules Through Metabolic Engineering, *Science* (1979). 330 (2010) 1355–1358. <https://doi.org/10.1126/science.1193990>.
- [25] S.Y. Lee, H.U. Kim, T.U. Chae, J.S. Cho, J.W. Kim, J.H. Shin, D.I. Kim, Y.-S. Ko, W.D. Jang, Y.-S. Jang, A comprehensive metabolic map for production of bio-based chemicals, *Nat. Catal.* 2 (2019) 18–33. <https://doi.org/10.1038/s41929-018-0212-4>.
- [26] A.J.J. Straathof, Transformation of Biomass into Commodity Chemicals Using Enzymes or Cells, *Chem. Rev.* 114 (2014) 1871–1908. <https://doi.org/10.1021/cr400309c>.
- [27] R.A. Sheldon, D. Brady, M.L. Bode, The Hitchhiker's guide to biocatalysis: recent advances in the use of enzymes in organic synthesis, *Chem. Sci.* 11 (2020) 2587–2605. <https://doi.org/10.1039/C9SC05746C>.
- [28] A. Aparna, G. Srinikethan, H. Smitha, Production and characterization of biosurfactant produced by a novel *Pseudomonas* sp. 2B, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 95 (2012) 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.01.043>.
- [29] A.K. Samanta, N. Jayapal, C. Jayaram, S. Roy, A.P. Kolte, S. Senani, M. Sridhar, Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: Production and applications, *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 5 (2015) 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.12.003>.
- [30] C. Kourmentza, J. Plácido, N. Venetsaneas, A. Burniol-Figols, C. Varrone, H.N. Gavala, M.A.M. Reis, Recent Advances and Challenges towards Sustainable Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production, *Bioengineering* 4 (2017) 55. <https://doi.org/10.3390/bioengineering4020055>.
- [31] N. Abd-Talib, C.S. Chuong, S.H. Mohd-Setapar, U.A. Asli, K.F. Pa'ee, K.Y.T. Len, Trends in Adsorption Mechanisms of Fruit Peel Adsorbents to Remove Wastewater Pollutants (Cu (II), Cd (II) and Pb (II)), *J. Water Environ. Technol.* 18 (2020) 290–313. <https://doi.org/10.2965/jwet.20-004>.

- [32] A.A. Achary, S.G. Prapulla, Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging Prebiotic: Microbial Synthesis, Utilization, Structural Characterization, Bioactive Properties, and Applications, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 10 (2011) 2–16. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00135.x>.
- [33] M.J. Vázquez, J.L. Alonso, H. Domínguez, J.C. Parajó, Xylooligosaccharides: manufacture and applications, *Trends Food Sci. Technol.* 11 (2000) 387–393. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00031-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00031-0).
- [34] M.P. Cabrini, M.C.C. Nardi, PRODUÇÃO DE BIOCARVÃO DE RESÍDUOS DE LARANJA APLICADO COMO ADSORVENTE NO TRATAMENTO DE ÁGUAS CONTAMINADAS COM O CORANTE FUCSINA BÁSICA/ PRODUCTION OF ORANGE WASTE BIO CARBON APPLIED AS AN ADSORBENT IN THE TREATMENT OF WATER CONTAMINATED WITH THE BASIC FUCHSIN DYE, *Brazilian Journal of Development* 6 (2020) 101028–101035. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n12-554>.
- [35] G.-Q. Chen, Plastics Completely Synthesized by Bacteria: Polyhydroxyalkanoates, in: 2010: pp. 17–37. https://doi.org/10.1007/978-3-642-03287-5_2.
- [36] M. Koller, S. Obruča, Biotechnological production of polyhydroxyalkanoates from glycerol: A review, *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 42 (2022) 102333. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102333>.
- [37] I. Yoshimura, A.M. Salazar-Bryam, A.U. de Faria, L.P. Leite, R.B. Lovaglio, J. Contiero, Guava Seed Oil: Potential Waste for the Rhamnolipids Production, *Fermentation* 8 (2022) 379. <https://doi.org/10.3390/fermentation8080379>.
- [38] M.B. Souza, J.S. Santos, M.S. Pontes, L.R. Nunes, I.P. Oliveira, A.J. Lopez Ayme, E.F. Santiago, R. Grillo, A.R. Fiorucci, G.J. Arruda, CeO₂ nanostructured electrochemical sensor for the simultaneous recognition of diethylstilbestrol and 17 β -estradiol hormones, *Science of The Total Environment* 805 (2022) 150348. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150348>.
- [39] C. Justino, A. Duarte, T. Rocha-Santos, Recent Progress in Biosensors for Environmental Monitoring: A Review, *Sensors* 17 (2017) 2918. <https://doi.org/10.3390/s17122918>.
- [40] A.J.. Bard, L.R.. Faulkner, *Electrochemical methods : fundamentals and applications*, John Wiley & Sons, Inc., 2001.

- [41] A. Lasia, *Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 1999.
- [42] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, Wiley, 2006. <https://doi.org/10.1002/0471790303>.
- [43] M. Singh, S.R. Bhardiya, A. Rai, V.K. Rai, Graphene-based Nanomaterials for Electrochemical Sensing of Hydrazine: A Short Review, *Curr. Anal. Chem.* 19 (2023) 27–37. <https://doi.org/10.2174/1573411018666220421104413>.
- [44] A. Ambrosi, C.K. Chua, N.M. Latiff, A.H. Loo, C.H.A. Wong, A.Y.S. Eng, A. Bonanni, M. Pumera, Graphene and its electrochemistry – an update, *Chem. Soc. Rev.* 45 (2016) 2458–2493. <https://doi.org/10.1039/C6CS00136J>.
- [45] Md.A. Rahman, P. Kumar, D.-S. Park, Y.-B. Shim, Electrochemical Sensors Based on Organic Conjugated Polymers, *Sensors* 8 (2008) 118–141. <https://doi.org/10.3390/s8010118>.
- [46] W. Gao, S. Emaminejad, H.Y.Y. Nyein, S. Challa, K. Chen, A. Peck, H.M. Fahad, H. Ota, H. Shiraki, D. Kiriya, D.-H. Lien, G.A. Brooks, R.W. Davis, A. Javey, Fully integrated wearable sensor arrays for multiplexed in situ perspiration analysis, *Nature* 529 (2016) 509–514. <https://doi.org/10.1038/nature16521>.
- [47] M. Labib, E.H. Sargent, S.O. Kelley, Electrochemical Methods for the Analysis of Clinically Relevant Biomolecules, *Chem. Rev.* 116 (2016) 9001–9090. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00220>.
- [48] J. Kim, A.S. Campbell, B.E.-F. de Ávila, J. Wang, Wearable biosensors for healthcare monitoring, *Nat. Biotechnol.* 37 (2019) 389–406. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0045-y>.
- [49] K. Haupt, Peer Reviewed: Molecularly Imprinted Polymers: The Next Generation, *Anal. Chem.* 75 (2003) 376 A–383 A. <https://doi.org/10.1021/ac031385h>.
- [50] H. Hrichi, M.R. Louhaichi, L. Monser, N. Adhoum, Gliclazide voltammetric sensor based on electropolymerized molecularly imprinted polypyrrole film onto glassy carbon electrode, *Sens. Actuators B Chem.* 204 (2014) 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.07.056>.

- [51] M. Roushani, N. Zalpour, Selective detection of Asulam with in-situ dopamine electropolymerization based electrochemical MIP sensor, *React. Funct. Polym.* 169 (2021) 105069. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105069>.
- [52] L. Moreira Gonçalves, Electropolymerized molecularly imprinted polymers: perceptions based on recent literature for soon-to-be world-class scientists, *Curr. Opin. Electrochem.* 25 (2021) 100640. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.09.007>.
- [53] D. Gritsok, M. Hedström, M.C.B.S.M. Montenegro, C.G. Amorim, Electrochemical molecularly imprinted polymer sensors in viral diagnostics: Innovations, challenges and case studies, *Biosens. Bioelectron.* 287 (2025) 117678. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2025.117678>.
- [54] G. Wulff, Molecular Imprinting in Cross-Linked Materials with the Aid of Molecular Templates— A Way towards Artificial Antibodies, *Angewandte Chemie International Edition in English* 34 (1995) 1812–1832. <https://doi.org/10.1002/anie.199518121>.
- [55] K. Severin, Buchbesprechung: Molecularly Imprinted Polymers. Man-Made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry. (Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry - Vol. 23). Herausgegeben von Börje Sellergren, *Angewandte Chemie* 114 (2002) 1116–1116. [https://doi.org/10.1002/1521-3757\(20020315\)114:6<1116::AID-ANGE1116>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1521-3757(20020315)114:6<1116::AID-ANGE1116>3.0.CO;2-7).
- [56] V. Pichon, F. Chapuis-Hugon, Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants—A review, *Anal. Chim. Acta* 622 (2008) 48–61. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.05.057>.
- [57] M.F. Falone, B.G. Olsen, E. Buffon, N.R. Stradiotto, Electrochemical sensing of palmitic acid in guava oil using a surface modified with reduced graphene oxide-decorated manganese nanoparticles and electropolymerized poly(L-serine) film, *Journal of Food Composition and Analysis* 135 (2024) 106550. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106550>.
- [58] Y. Zhu, C. Romain, C.K. Williams, Sustainable polymers from renewable resources, *Nature* 540 (2016) 354–362. <https://doi.org/10.1038/nature21001>.
- [59] T. Cowen, D. Maniglio, A.M. Bossi, Molecular imprinting using biopolymers as building Blocks: Sustainable and biocompatible metamaterials for smart recognition and

- selective biointerfaces, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 193 (2025) 118422. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2025.118422>.
- [60] L.A. Dinu, C. Parvulescu, O.G. Simionescu, O. Brincoveanu, C. Romanitan, C. Pachiu, L. Motelica, D. Özsoylu, S. Kurbanoglu, Nanocrystalline graphite-patterned silicon substrates for molecularly imprinted biopolymer-based electrochemical detection of glyphosate, *Applied Surface Science Advances* 32 (2026) 100940. <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2026.100940>.
- [61] X. Wang, H. Wan, X. Li, R. Wang, B. Hao, W. Tang, M. Zhang, W. Liu, M. Gao, W. Zhang, Core-shell magnetic molecularly imprinted microspheres for selective extraction and determination of Schisandrol A with hepatoprotective evaluation in zebrafish larvae, *J. Chromatogr. A* 1773 (2026) 466784. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2026.466784>.
- [62] S.S.M. Hassan, A.A. Abdelrahman, H.E.M. Sayour, A.E. Sayour, T.A. Youssef, M.A. Fathy, A novel impedimetric detection of *Brucella abortus* bacteria using molecularly imprinted polydopamine polymer, *Microchemical Journal* 222 (2026) 117212. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2026.117212>.
- [63] Z. Song, Z. Han, S. Lv, C. Chen, L. Chen, L. Yin, J. Cheng, Synthetic polypeptides: from polymer design to supramolecular assembly and biomedical application, *Chem. Soc. Rev.* 46 (2017) 6570–6599. <https://doi.org/10.1039/C7CS00460E>.
- [64] H. Yuan, M. Jiang, H. Fang, H. Tian, Recent advances in poly(amino acids), polypeptides, and their derivatives in drug delivery, *Nanoscale* 17 (2025) 3549–3584. <https://doi.org/10.1039/D4NR04481A>.
- [65] W. Yi, Z. He, J. Fei, X. He, Sensitive electrochemical sensor based on poly(L-glutamic acid)/graphene oxide composite material for simultaneous detection of heavy metal ions, *RSC Adv.* 9 (2019) 17325–17334. <https://doi.org/10.1039/C9RA01891C>.
- [66] M. Hou, S. Liu, Recent Progress of pH-Responsive Peptides, Polypeptides, and Their Supramolecular Assemblies for Biomedical Applications, *Biomacromolecules* 25 (2024) 5402–5416. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.4c00688>.
- [67] T.J. Deming, Polypeptide Materials: New synthetic methods and applications, *Advanced Materials* 9 (1997) 299–311. <https://doi.org/10.1002/adma.19970090404>.

- [68] L. Laurinavičius, A. Radzevič, I. Ignatjev, G. Niaura, K. Vitkutė, T. Širšinaitis, R. Trusovas, R. Pauliukaite, Investigation of electrochemical polymerisation of L-lysine and application for immobilisation of functionalised graphene as platform for electrochemical sensing, *Electrochim. Acta* 299 (2019) 936–945. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.01.079>.
- [69] S.K. Yorke, Z. Yang, E.G. Wiita, A. Kamada, T.P.J. Knowles, M.J. Buehler, Design and sustainability of polypeptide material systems, *Nat. Rev. Mater.* 10 (2025) 750–768. <https://doi.org/10.1038/s41578-025-00793-3>.
- [70] D.L. Nelson, M.M. Cox, *Lehninger Biochemie*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2001. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-08289-8>.
- [71] S. Jafari, M. Dehghani, N. Nasirizadeh, M. Azimzadeh, An azithromycin electrochemical sensor based on an aniline MIP film electropolymerized on a gold nano urchins/graphene oxide modified glassy carbon electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 829 (2018) 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.09.053>.
- [72] D. Balciunas, D. Plausinaitis, V. Ratautaite, A. Ramanaviciene, A. Ramanavicius, Towards electrochemical surface plasmon resonance sensor based on the molecularly imprinted polypyrrole for glyphosate sensing, *Talanta* 241 (2022) 123252. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123252>.
- [73] L.P. Kozlowski, IPC – Isoelectric Point Calculator, *Biol. Direct* 11 (2016) 55. <https://doi.org/10.1186/s13062-016-0159-9>.
- [74] L. Di Rienzo, M. Miotto, L. Bò, G. Ruocco, D. Raimondo, E. Milanetti, Characterizing Hydropathy of Amino Acid Side Chain in a Protein Environment by Investigating the Structural Changes of Water Molecules Network, *Front. Mol. Biosci.* 8 (2021). <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.626837>.
- [75] J. Biro, Amino acid size, charge, hydropathy indices and matrices for protein structure analysis, *Theor. Biol. Med. Model.* 3 (2006) 15. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-3-15>.
- [76] E. Turiel, A. Martín-Esteban, Molecularly imprinted polymers-based microextraction techniques, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 118 (2019) 574–586. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.016>.

- [77] G. Ertürk, B. Mattiasson, Molecular Imprinting Techniques Used for the Preparation of Biosensors, *Sensors* 17 (2017) 288. <https://doi.org/10.3390/s17020288>.
- [78] S.A. Piletsky, A.P.F. Turner, Electrochemical Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymers, *Electroanalysis* 14 (2002) 317–323. [https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200203\)14:5<317::AID-ELAN317>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200203)14:5<317::AID-ELAN317>3.0.CO;2-5).
- [79] H. Yan, K.H. Row, Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer, *Int. J. Mol. Sci.* 7 (2006) 155–178. <https://doi.org/10.3390/i7050155>.
- [80] L. Chen, X. Wang, W. Lu, X. Wu, J. Li, Molecular imprinting: perspectives and applications, *Chem. Soc. Rev.* 45 (2016) 2137–2211. <https://doi.org/10.1039/C6CS00061D>.
- [81] M.J. Whitcombe, N. Kirsch, I.A. Nicholls, Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years 2004-2011, *Journal of Molecular Recognition* 27 (2014) 297–401. <https://doi.org/10.1002/jmr.2347>.
- [82] E. Buffon, N.R. Stradiotto, Disposable p-coumaric acid sensor containing reduced graphene oxide, nickel nanoparticles and biodegradable molecularly imprinted polymer for fruit peel analysis, *Journal of Food Composition and Analysis* 118 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105186>.
- [83] S. Bahrani, E. Sadati Behbahani, M. Ghaedi, Y. Amrollahi Miandeh, A. Asfaram, Molecular imprinted technology using in biosensing: A review, *Microchemical Journal* 203 (2024) 110888. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110888>.
- [84] L. Chen, S. Xu, J. Li, Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications, *Chem. Soc. Rev.* 40 (2011) 2922. <https://doi.org/10.1039/c0cs00084a>.
- [85] M.B. de Souza, B.C. de Araújo Souza, N.R. Stradiotto, Molecularly imprinted electrochemical sensor based on electropolymerized glycine under reduced graphene oxide for determination of monorhamnolipids, *Microchemical Journal* 216 (2025) 114737. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2025.114737>.
- [86] H. Setiyanto, S.M. Hani, V. Saraswaty, I. Noviandri, H. Rusli, R.S. Rahayu, M.Y. Azis, N. Mufti, Sunset Yellow Electrochemical Sensor Based on a Molecularly Imprinted Poly-Glycine Film-Decorated Pencil Graphite Electrode, *J. Electrochem. Soc.* 170 (2023). <https://doi.org/10.1149/1945-7111/aceab0>.

- [87] M.P.C. Féo, T.D. Hoppe, D. Brondani, Electropolymerized Molecularly Imprinted Poly(*L*-Phenylalanine) Modified Lab-Made Screen-Printed Carbon Electrode for Voltammetric Analysis of Acetaminophen, *Electroanalysis* 37 (2025). <https://doi.org/10.1002/elan.12047>.
- [88] S. Ebadi, K. Ghanbari, M. Zahedi-Tabrizi, Development of an electrochemical sensor based on Ni-Bio-MOF and a molecular imprinted polymer for determination of diclofenac: electrochemical and DFT investigations, *RSC Adv.* 15 (2025) 16983–16998. <https://doi.org/10.1039/D5RA00194C>.
- [89] J.A. Plumley, M. (I-H. Tsai, J.J. Dannenberg, Aggregation of Capped Hexaglycine Strands into Hydrogen-Bonding Motifs Representative of Pleated and Rippled β -Sheets, Collagen, and Polyglycine I and II Crystal Structures. A Density Functional Theory Study, *J. Phys. Chem. B* 115 (2011) 1562–1570. <https://doi.org/10.1021/jp111501d>.
- [90] S. Bykov, S. Asher, Raman Studies of Solution Polyglycine Conformations, *J. Phys. Chem. B* 114 (2010) 6636–6641. <https://doi.org/10.1021/jp100082n>.
- [91] A.J. Heeger, Semiconducting and Metallic Polymers: The Fourth Generation of Polymeric Materials, *J. Phys. Chem. B* 105 (2001) 8475–8491. <https://doi.org/10.1021/jp011611w>.
- [92] Karandur, Pettitt, The contribution of electrostatic interactions to the collapse of oligoglycine in water, *Condens. Matter Phys.* 19 (2016) 23802. <https://doi.org/10.5488/CMP.19.23802>.
- [93] A.S. Mahadevi, G.N. Sastry, Cation- π Interaction: Its Role and Relevance in Chemistry, Biology, and Material Science, *Chem. Rev.* 113 (2013) 2100–2138. <https://doi.org/10.1021/cr300222d>.
- [94] A.L. Ringer, A. Senenko, C.D. Sherrill, Models of S/ π interactions in protein structures: Comparison of the H₂S–benzene complex with PDB data, *Protein Science* 16 (2007) 2216–2223. <https://doi.org/10.1110/ps.073002307>.
- [95] L. Chen, X. Wang, W. Lu, X. Wu, J. Li, Molecular imprinting: perspectives and applications, *Chem. Soc. Rev.* 45 (2016) 2137–2211. <https://doi.org/10.1039/C6CS00061D>.
- [96] B.G. Olsen, M.F. Falone, E. Buffon, I. Yoshimura, R. da S. Vale, J. Contiero, N.R. Stradiotto, Alternative method for rhamnolipids quantification using an

- electrochemical platform based on reduced graphene oxide, manganese nanoparticles and molecularly imprinted Poly(L-Ser), *Talanta* 272 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125778>.
- [97] M.R. Ali, M.S. Bacchu, M.R. Al-Mamun, M.M. Rahman, M.S. Ahommed, M.A.S. Aly, M.Z.H. Khan, Sensitive MWCNT/P-Cys@MIP sensor for selective electrochemical detection of ceftizoxime, *J. Mater. Sci.* 56 (2021) 12803–12813. <https://doi.org/10.1007/s10853-021-06115-6>.
- [98] C.-H. Wang, Y.-Y. Tang, Y.-J. Li, F.-L. Xiao, L.-D. Zhou, Q.-H. Zhang, C.-S. Yuan, Synergistic highly sensitive electrochemical detection of enrofloxacin using Eichhornia crassipes-derived carbon dots and molecularly imprinted polymer networks, *J. Environ. Chem. Eng.* 13 (2025) 118648. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.118648>.
- [99] C. Jin, M. Li, S. Duan, Q. Zhang, G. Zhang, Q. Liu, R. Zhang, H. Bai, An electrochemical sensor for direct and sensitive detection of ketamine, *Biosens. Bioelectron.* 226 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2023.115134>.
- [100] D. Duan, H. Yang, Y. Ding, D. Ye, L. Li, G. Ma, Three-dimensional molecularly imprinted electrochemical sensor based on Au NPs@Ti-based metal-organic frameworks for ultra-trace detection of bovine serum albumin, *Electrochim. Acta* 261 (2018) 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.12.146>.
- [101] A. Mohammadinejad, E. Abouzari-Lotf, G. Aleyaghoob, M. Rezayi, R. Kazemi Oskuee, Application of a transition metal oxide/carbon-based nanocomposite for designing a molecularly imprinted poly (l-cysteine) electrochemical sensor for curcumin, *Food Chem.* 386 (2022) 132845. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132845>.
- [102] A.A. Ganjeh, M. Arvand, M.F. Habibi, Electrostatically self-assembled magnetized MXene/copper ferrite nanospheres hybrids: Evaluation of molecularly imprinted electrochemical sensor for the quercetin antioxidant supplement, *Microchemical Journal* 207 (2024) 112026. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.112026>.
- [103] F. Habibi, M. Arvand, M.F. Habibi, Design an efficient molecularly imprinted polymer-functionalized nanopyramidal CdS on TiO₂ nanotube arrays as a photoelectrochemical sensing platform for the detection of erythrosine B, *Microchemical Journal* 216 (2025) 114731. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2025.114731>.

- [104] T. Alhedabi, H. Cattey, C. Roussel, V. Blondeau-Patissier, T. Gharbi, G. Herlem, Experimental and theoretical studies on electropolymerization of polar amino acids on platinum electrode, *Mater. Chem. Phys.* 185 (2017) 183–194. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.10.021>.
- [105] R. Ito, T. Sakai, K. Tsuchiya, Effect of Poly(L-serine) Additives with Different Primary Structures on the Mechanical Properties of Poly(vinyl alcohol) Films, *Biomacromolecules* 26 (2025) 3700–3710. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5c00277>.
- [106] R.G. Krishnan, B. Saraswathyamma, Electro-generated poly (cysteine) film as a sensor platform towards the simultaneous electroanalysis of hydrazine and hydroxylamine, *Mater. Chem. Phys.* 271 (2021) 124880. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.124880>.
- [107] P. Nagy, Kinetics and Mechanisms of Thiol–Disulfide Exchange Covering Direct Substitution and Thiol Oxidation-Mediated Pathways, *Antioxid. Redox Signal.* 18 (2013) 1623–1641. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4973>.
- [108] W. Khamcharoen, C.S. Henry, W. Siangproh, A novel L-cysteine sensor using in-situ electropolymerization of L-cysteine: Potential to simple and selective detection, *Talanta* 237 (2022) 122983. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122983>.
- [109] M.E. Lynge, R. van der Westen, A. Postma, B. Städler, Polydopamine—a nature-inspired polymer coating for biomedical science, *Nanoscale* 3 (2011) 4916. <https://doi.org/10.1039/c1nr10969c>.
- [110] C. Li, Voltammetric determination of tyrosine based on an L-serine polymer film electrode, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 50 (2006) 147–151. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2006.05.004>.
- [111] J.A. Talaj, K. Zielinski, A. Bujacz, Structural Investigation of Diclofenac Binding to Ovine, Caprine, and Leporine Serum Albumins, *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2023) 1534. <https://doi.org/10.3390/ijms24021534>.
- [112] Y. Guo, J. Tong, Y. Guo, X. Song, K. Shi, Z. Guo, B. Liu, J. Xu, Interaction, stability and bioaccessibility of bovine serum albumin-quercetin/myricetin complexes: Multi-spectroscopy and molecular dynamics simulation studies, *Food Hydrocoll.* 160 (2025) 110836. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110836>.

- [113] H. Tang, L. Huang, D. Zhao, C. Sun, P. Song, Interaction mechanism of flavonoids on bovine serum albumin: Insights from molecular property-binding affinity relationship, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 239 (2020) 118519. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118519>.
- [114] E.P. Carreiro, P. Múria, D. Velez, M.R. Carrott, A.J. Burke, A.R. Costa, Novel Bioinspired Quercetin-Based Polymers for the Sustained Release of Donepezil in Alzheimer's Disease Therapy, *Polymers (Basel)*. 18 (2026) 234. <https://doi.org/10.3390/polym18020234>.
- [115] D.A. Gkika, A.K. Tolkou, D.A. Lambropoulou, D.N. Bikiaris, P. Kokkinos, I.K. Kalavrouziotis, G.Z. Kyzas, Application of molecularly imprinted polymers (MIPs) as environmental separation tools, *RSC Applied Polymers* 2 (2024) 127–148. <https://doi.org/10.1039/D3LP00203A>.
- [116] M. Salajegheh, M. Ansari, M.M. Foroghi, M. Kazemipour, Computational design as a green approach for facile preparation of molecularly imprinted polyarginine-sodium alginate-multiwalled carbon nanotubes composite film on glassy carbon electrode for theophylline sensing, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 162 (2019) 215–224. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.032>.
- [117] W. Li, K. Diao, D. Qiu, Y. Zeng, K. Tang, Y. Zhu, Y. Sheng, Y. Wen, M. Li, A highly-sensitive and selective antibody-like sensor based on molecularly imprinted poly(L-arginine) on COOH-MWCNTs for electrochemical recognition and detection of deoxynivalenol, *Food Chem.* 350 (2021) 129229. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129229>.
- [118] M.R. Ali, M.S. Bacchu, M. Daizy, C. Tarafder, M.S. Hossain, M.M. Rahman, M.Z.H. Khan, A highly sensitive poly-arginine based MIP as an electrochemical sensor for selective detection of dimetridazole, *Anal. Chim. Acta* 1121 (2020) 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.05.004>.
- [119] M.P. da Silva, M.A. Beluomini, C. de Freitas, M. Brienzo, N.R. Stradiotto, Electrochemical detection of xylobiose in banana biomass using a 3D porous copper oxide foam electrode modified with a molecularly imprinted Poly-L-arginine film, *Journal of Food Composition and Analysis* 124 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105658>.
- [120] Y. He, A. Xu, Z. Gu, M. Dai, Y. Xia, S. Wang, J. Yang, H. Bai, Computationally optimized molecularly imprinted electrochemical sensor for ultrasensitive detection of 17β-

- estradiol in complex matrices, *J. Hazard. Mater.* 501 (2026) 140705. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.140705>.
- [121] T. Lai, H. Shu, B. Yao, S. Lai, T. Chen, X. Xiao, Y. Wang, A Highly Selective Electrochemical Sensor Based on Molecularly Imprinted Copolymer Functionalized with Arginine for the Detection of Chloramphenicol in Honey, *Biosensors (Basel)*. 13 (2023) 505. <https://doi.org/10.3390/bios13050505>.
- [122] K. Ma, T. Gu, H. Xia, Y. Su, S. Guo, High-performance molecularly imprinted electrochemical sensors for detection of fusaric acid as a plant wilt disease biomarker, *Electrochim. Acta* 551 (2026) 148205. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2026.148205>.
- [123] M. Salajegheh, M. Kazemipour, M.M. Foroghi, M. Ansari, Morphine Sensing by a Green Modified Molecularly Imprinted Poly L-Lysine/Sodium Alginate-activated Carbon/Glassy Carbon Electrode Based on Computational Design, *Electroanalysis* 31 (2019) 468–476. <https://doi.org/10.1002/elan.201800395>.
- [124] P.E. Mason, G.W. Neilson, C.E. Dempsey, A.C. Barnes, J.M. Cruickshank, The hydration structure of guanidinium and thiocyanate ions: Implications for protein stability in aqueous solution, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (2003) 4557–4561. <https://doi.org/10.1073/pnas.0735920100>.
- [125] J.-S. Chiou, T. Tatara, S. Sawamura, Y. Kaminoh, H. Kamaya, A. Shibata, I. Ueda, The α -helix to β -sheet transition in poly(l-lysine): Effects of anesthetics and high pressure, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1119 (1992) 211–217. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(92\)90394-S](https://doi.org/10.1016/0167-4838(92)90394-S).
- [126] K. Cieřlik-Boczula, Alpha-helix to beta-sheet transition in long-chain poly- l -lysine: Formation of alpha-helical fibrils by poly- l -lysine, *Biochimie* 137 (2017) 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.03.006>.
- [127] A.D. Robison, S. Sun, M.F. Poyton, G.A. Johnson, J.-P. Pellois, P. Jungwirth, M. Vazdar, P.S. Cremer, Polyarginine Interacts More Strongly and Cooperatively than Polylysine with Phospholipid Bilayers, *J. Phys. Chem. B* 120 (2016) 9287–9296. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b05604>.

- [128] E. Roy, S.K. Maity, S. Patra, R. Madhuri, P.K. Sharma, A metronidazole-probe sensor based on imprinted biocompatible nanofilm for rapid and sensitive detection of anaerobic protozoan, *RSC Adv.* 4 (2014) 32881. <https://doi.org/10.1039/C4RA04868G>.
- [129] R. Zhang, S. Xu, J. Luo, X. Liu, Molecularly imprinted photo-sensitive polyglutamic acid nanoparticles for electrochemical sensing of hemoglobin, *Microchimica Acta* 182 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1315-5>.
- [130] R. Zhang, S. Xu, Y. Zhu, W. Zhao, J. Luo, X. Liu, D. Tang, Molecularly imprinted nanohybrids based on dopamine-modified poly(γ -glutamic acid) for electrochemical sensing of melamine, *Biosens. Bioelectron.* 85 (2016) 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.05.030>.
- [131] G.C. de Prinsipe, M.F. Falone, E. Buffon, A.L. Barbiéri, N.R. Stradiotto, Selective electrochemical determination of sucrose in sugarcane juice using a reduced graphene oxide modified electrode functionalized with a molecularly imprinted aspartic acid electropolymerized film, *Journal of Food Composition and Analysis* 147 (2025) 108012. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2025.108012>.
- [132] M. Cai, Y. Han, X. Zheng, B. Xue, X. Zhang, Z. Mahmut, Y. Wang, B. Dong, C. Zhang, D. Gao, J. Sun, Synthesis of Poly- γ -Glutamic Acid and Its Application in Biomedical Materials, *Materials* 17 (2023) 15. <https://doi.org/10.3390/ma17010015>.
- [133] E. Katchalski, M. Sela, Synthesis and Chemical Properties of Poly- α -Amino Acids, in: 1958: pp. 243–492. [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(08\)60600-2](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(08)60600-2).
- [134] L. Jing, P. Li, Z. Li, D. Ma, J. Hu, Influence of π – π interactions on organic photocatalytic materials and their performance, *Chem. Soc. Rev.* 54 (2025) 2054–2090. <https://doi.org/10.1039/D4CS00029C>.
- [135] S. Roweton, S.J. Huang, G. Swift, Poly(aspartic acid): Synthesis, biodegradation, and current applications, *J. Environ. Polym. Degrad.* 5 (1997) 175–181. <https://doi.org/10.1007/BF02763661>.
- [136] L.-L. Wang, J.-T. Chen, L.-F. Wang, S. Wu, G. Zhang, H.-Q. Yu, X. Ye, Q.-S. Shi, Conformations and molecular interactions of poly- γ -glutamic acid as a soluble microbial product in aqueous solutions, *Sci. Rep.* 7 (2017) 12787. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13152-2>.

- [137] C. Li, Poly(l-glutamic acid)–anticancer drug conjugates, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54 (2002) 695–713. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00045-5).
- [138] A. Lamaoui, J.M. Palacios-Santander, A. Amine, L. Cubillana-Aguilera, Molecularly imprinted polymers based on polydopamine: Assessment of non-specific adsorption, *Microchemical Journal* 164 (2021) 106043. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106043>.
- [139] M. Komiyama, T. Mori, K. Ariga, Molecular Imprinting: Materials Nanoarchitectonics with Molecular Information, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 91 (2018) 1075–1111. <https://doi.org/10.1246/bcsj.20180084>.
- [140] C. Cabaleiro-Lago, S. Hasterok, A. Gjörlöf Wingren, H. Tassidis, Recent Advances in Molecularly Imprinted Polymers and Their Disease-Related Applications, *Polymers (Basel)*. 15 (2023) 4199. <https://doi.org/10.3390/polym15214199>.
- [141] Y. Yang, X. He, S. Xu, D. Wang, Z. Liu, Z. Xu, Post-imprinting modification of molecularly imprinted polymer for proteins detection: A review, *Int. J. Biol. Macromol.* 253 (2023) 127104. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127104>.
- [142] P. Mofazali, M. Lalinia, J.D. Gross, A. Samadi, Molecularly imprinted polymers: applications, computational approaches, and the transformative role of artificial intelligence, *Coord. Chem. Rev.* 559 (2026) 217808. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2026.217808>.
- [143] M.F. Falone, E. Buffon, N.R. Stradiotto, Molecularly imprinted electrochemical sensor for monitoring mercaptan sulfur in aviation biofuel, *Fuel* 307 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121783>.
- [144] R.G. Compton, C.E. Banks, *Understanding voltammetry*, 2nd ed., London, 2011.
- [145] M.A. Beluomini, J.L. da Silva, G.C. Sedenho, N.R. Stradiotto, D-mannitol sensor based on molecularly imprinted polymer on electrode modified with reduced graphene oxide decorated with gold nanoparticles, *Talanta* 165 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.040>.
- [146] M.F. Falone, E. Buffon, N.R. Stradiotto, New Electrochemical Approach Based on Modified Electrode with Reduced Graphene Oxide, Iron Nanoparticle, and Molecularly Imprinted Poly(aniline) for Determination of Linoleic Acid in Guava Seed Oil, *Food Anal. Methods* 18 (2025). <https://doi.org/10.1007/s12161-025-02822-x>.

- [147] V.N. Palakollu, N. Thapliyal, T.E. Chiwunze, R. Karpoormath, S. Karunanidhi, S. Cherukupalli, Electrochemically reduced graphene oxide/Poly-Glycine composite modified electrode for sensitive determination of L-dopa, *Materials Science and Engineering C* 77 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.173>.
- [148] B.G. Olsen, N.R. Stradiotto, Electrochemical sensor based on nanostructured surface of reduced graphene oxide and gold nanoparticles containing electropolymerized polypyrrole for selective determination of limonene enantiomers in orange and pine essential oils, *Microchemical Journal* 209 (2025) 112781. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2025.112781>.
- [149] Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit, *Analyst* 112 (1987). <https://doi.org/10.1039/AN9871200199>.
- [150] R.D. de Oliveira, V. Novello, L.F. da Silva, J.G.C. Gomez, G.A.C. Le Roux, Glucose metabolism in *Pseudomonas aeruginosa* is cyclic when producing Polyhydroxyalkanoates and Rhamnolipids, *J. Biotechnol.* 342 (2021) 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.10.007>.
- [151] M. Benincasa, F.R. Accorsini, *Pseudomonas aeruginosa* LBI production as an integrated process using the wastes from sunflower-oil refining as a substrate, *Bioresour. Technol.* 99 (2008). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.048>.
- [152] A. Wittgens, F. Kovacic, M.M. Müller, M. Gerlitzki, B. Santiago-Schübel, D. Hofmann, T. Tiso, L.M. Blank, M. Henkel, R. Hausmann, C. Syldatk, S. Wilhelm, F. Rosenau, Novel insights into biosynthesis and uptake of rhamnolipids and their precursors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101 (2017) 2865–2878. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8041-3>.
- [153] D. Bueno, C. de Freitas, M. Brienzo, Enzymatic Cocktail Formulation for Xylan Hydrolysis into Xylose and Xylooligosaccharides, *Molecules* 28 (2023) 624. <https://doi.org/10.3390/molecules28020624>.
- [154] A. Veeramanocharan, S.-C. Kim, A comprehensive review on sustainable surfactants from CNSL: chemistry, key applications and research perspectives, *RSC Adv.* 14 (2024) 25429–25471. <https://doi.org/10.1039/D4RA04684F>.
- [155] B. Shao, Z. Liu, H. Zhong, G. Zeng, G. Liu, M. Yu, Y. Liu, X. Yang, Z. Li, Z. Fang, J. Zhang, C. Zhao, Effects of rhamnolipids on microorganism characteristics and applications in

- composting: A review, *Microbiol. Res.* 200 (2017).
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.04.005>.
- [156] C. Verma, L.K.M.O. Goni, I.Y. Yaagoob, H. Vashisht, M.A.J. Mazumder, A. Alfantazi, Polymeric surfactants as ideal substitutes for sustainable corrosion protection: A perspective on colloidal and interface properties, *Adv. Colloid Interface Sci.* 318 (2023).
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102966>.
- [157] D.K. Ponelakkia, V. Balaji, K. Muhil Eswari, R.M. Nivetha, R. Yuvakkumar, G. Ravi, Investigation of surfactant assisted Fe₂(MoO₄)₃/rGO nanocomposite for supercapacitor application, *Mater. Lett.* 363 (2024).
<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2024.136269>.
- [158] N. Dubey, A study on surfactant modified polypyrrole nanostructures and its applications in supercapacitors, *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 28 (2023). <https://doi.org/10.1080/1023666X.2023.2267257>.
- [159] S.S. Markam, A. Raj, A. Kumar, M.L. Khan, Microbial biosurfactants: Green alternatives and sustainable solution for augmenting pesticide remediation and management of organic waste, *Curr. Res. Microb. Sci.* 7 (2024) 100266.
<https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100266>.
- [160] F. Zhao, M. Zheng, X. Xu, Microbial conversion of agro-processing waste (peanut meal) to rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*: solid-state fermentation, water extraction, medium optimization and potential applications, *Bioresour. Technol.* 369 (2023) 128426. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128426>.
- [161] M.M. Abo Elsoud, M.M. Elhateir, S.F. Hasan, N.M. Sidkey, S.A. Abdelhamid, Enhanced low-cost optimization strategies for antimicrobial rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *Bioresour. Technol. Rep.* 27 (2024) 101935.
<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2024.101935>.
- [162] B. Behrens, M. Baune, J. Jungkeit, T. Tiso, L.M. Blank, H. Hayen, High performance liquid chromatography-charged aerosol detection applying an inverse gradient for quantification of rhamnolipid biosurfactants, *J. Chromatogr. A* 1455 (2016).
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.05.079>.
- [163] D.E. Hogan, F. Tian, S.W. Malm, C. Olivares, R. Palos Pacheco, M.T. Simonich, A.S. Hunjan, R.L. Tanguay, W.T. Klimecki, R. Polt, J.E. Pemberton, J.E. Curry, R.M. Maier,

- Biodegradability and toxicity of monorhamnolipid biosurfactant diastereomers, J. Hazard. Mater. 364 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.050>.
- [164] M. Rudden, K. Tsaousi, R. Marchant, I.M. Banat, T.J. Smyth, Erratum to: Development and validation of an ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the quantitative determination of rhamnolipid congeners [Appl Microbiol Biotechnol, DOI 10.1007/s00253-015-6837-1], Appl. Microbiol. Biotechnol. 99 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6968-4>.
- [165] A. Zgoła-Grześkowiak, E. Kaczorek, Isolation, preconcentration and determination of rhamnolipids in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry, Talanta 83 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.10.037>.
- [166] F. Lépine, E. Déziel, S. Milot, R. Villemur, Liquid chromatographic/mass spectrometric detection of the 3-(3-hydroxyalkanoyloxy) alkanoic acid precursors of rhamnolipids in *Pseudomonas aeruginosa* cultures, Journal of Mass Spectrometry 37 (2002) 41–46. <https://doi.org/10.1002/jms.244>.
- [167] A. Filloux, J.-L. Ramos, eds., *Pseudomonas Methods and Protocols*, Springer New York, New York, NY, 2014. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0473-0>.
- [168] M. Heyd, A. Kohnert, T.H. Tan, M. Nusser, F. Kirschhöfer, G. Brenner-Weiss, M. Franzreb, S. Berensmeier, Development and trends of biosurfactant analysis and purification using rhamnolipids as an example, Anal. Bioanal. Chem. 391 (2008). <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1828-4>.
- [169] R.N. Barros, M.B. Souza, F.A. Trenkel, D.F. Duarte, S.M. Lima, L.H.C. Andrade, G.J. Arruda, New carbon-based voltammetric sensor modified with multi-walled carbon nanotubes decorated with europium oxide to determine triclosan, Mater. Chem. Phys. 317 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2024.129137>.
- [170] S. He, P. He, X. Zhang, X. Zhang, K. Liu, L. Jia, F. Dong, Poly(glycine)/graphene oxide modified glassy carbon electrode: Preparation, characterization and simultaneous electrochemical determination of dopamine, uric acid, guanine and adenine, Anal. Chim. Acta 1031 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.020>.
- [171] O. Gilbert, B.E. Kumara Swamy, U. Chandra, B.S. Sherigara, Simultaneous detection of dopamine and ascorbic acid using polyglycine modified carbon paste electrode: A cyclic

- voltammetric study, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 636 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2009.09.016>.
- [172] N. Karthikeyan, V. V. Giridhar, D. Vasudevan, Surfactant effects on methanol oxidation at Pt-Ru/C coated glassy carbon electrode, *Journal of Solid State Electrochemistry* 14 (2010). <https://doi.org/10.1007/s10008-009-0867-5>.
- [173] A. Pawlak, A. Nosal-Wiercińska, Effect of Ionic Surfactants on Kinetics and Mechanism of the Bi(III) Ion Electroreduction in the Mixed Aqueous–Organic Solutions of Supporting Electrolytes, *Molecules* 29 (2024) 4986. <https://doi.org/10.3390/molecules29214986>.
- [174] J.G.G. Manjunatha, A novel poly (glycine) biosensor towards the detection of indigo carmine: A voltammetric study, *J. Food Drug Anal.* 26 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.05.002>.
- [175] M. Doulache, N.K. Bakirhan, B. Saidat, S.A. Ozkan, Highly Sensitive and Selective Electrochemical Sensor Based on Polyglycine Modified Glassy Carbon Electrode for Simultaneous Determination of Amlodipine and Ramipril from Biological Samples, *J. Electrochem. Soc.* 167 (2020). <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ab68cd>.
- [176] J.J. Max, M. Trudel, C. Chapados, Infrared titration of aqueous glycine, *Appl. Spectrosc.* 52 (1998). <https://doi.org/10.1366/0003702981943284>.
- [177] T. Baraniraj, P. Philominathan, Growth and Characterization of Gamma Glycine Single Crystals Grown from Alpha Glycine in the Presence of Sodium Acetate, *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering* 10 (2011). <https://doi.org/10.4236/jmmce.2011.104025>.
- [178] M.H. Ahmed, J.A. Byrne, J.A.D. McLaughlin, A. Elhissi, W. Ahmed, Comparison between FTIR and XPS characterization of amino acid glycine adsorption onto diamond-like carbon (DLC) and silicon doped DLC, *Appl. Surf. Sci.* 273 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.02.070>.
- [179] A. Carvalho, M.C.F. Costa, V.S. Marangoni, P.R. Ng, T.L.H. Nguyen, A.H. Castro Neto, The Degree of Oxidation of Graphene Oxide, *Nanomaterials* 11 (2021) 560. <https://doi.org/10.3390/nano11030560>.
- [180] P.W. Albers, V. Leich, A.J. Ramirez-Cuesta, Y. Cheng, J. Hönig, S.F. Parker, The characterisation of commercial 2D carbons: graphene, graphene oxide and reduced

- graphene oxide, *Mater. Adv.* 3 (2022) 2810–2826. <https://doi.org/10.1039/D1MA01023A>.
- [181] R.J.J. Jansen, H. van Bekkum, XPS of nitrogen-containing functional groups on activated carbon, *Carbon* N. Y. 33 (1995) 1021–1027. [https://doi.org/10.1016/0008-6223\(95\)00030-H](https://doi.org/10.1016/0008-6223(95)00030-H).
- [182] C.M.A. Brett, *Electrochemical Impedance Spectroscopy in the Characterisation and Application of Modified Electrodes for Electrochemical Sensors and Biosensors*, *Molecules* 27 (2022) 1497. <https://doi.org/10.3390/molecules27051497>.
- [183] L.F. Pompeu Prado Moreira, E. Buffon, N.R. Stradiotto, Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and molecularly imprinted poly(phenol) for D-xylose determination, *Talanta* 208 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120379>.
- [184] S.J. Konopka, B. McDuffie, Diffusion Coefficients of Ferri- and Ferrocyanide Ions in Aqueous Media, Using Twin-Electrode Thin-Layer Electrochemistry, *Anal. Chem.* 42 (1970). <https://doi.org/10.1021/ac50160a042>.
- [185] R.A. Lorenzo, A.M. Carro, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, To remove or not to remove? The challenge of extracting the template to make the cavities available in molecularly imprinted polymers (MIPs), *Int. J. Mol. Sci.* 12 (2011) 4327–4347. <https://doi.org/10.3390/ijms12074327>.
- [186] M.Z.H. Khan, X. Liu, Y. Tang, X. Liu, Ultra-sensitive electrochemical detection of oxidative stress biomarker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine with poly (L-arginine)/graphene wrapped Au nanoparticles modified electrode, *Biosens. Bioelectron.* 117 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.06.048>.
- [187] H.K. Kordasht, M. Hasanzadeh, F. Seidi, P.M. Alizadeh, Poly (amino acids) towards sensing: Recent progress and challenges, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 140 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116279>.
- [188] R. Esposito, I. Speciale, C. De Castro, G. D'Errico, I. Russo Krauss, Rhamnolipid Self-Aggregation in Aqueous Media: A Long Journey toward the Definition of Structure–Property Relationships, *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2023) 5395. <https://doi.org/10.3390/ijms24065395>.
- [189] A.C. Dumetz, A.M. Chockla, E.W. Kaler, A.M. Lenhoff, Effects of pH on protein–protein interactions and implications for protein phase behavior, *Biochimica et Biophysica Acta*

- (BBA) - Proteins and Proteomics 1784 (2008) 600–610.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2007.12.016>.
- [190] P. Batys, M. Morga, P. Bonarek, M. Sammalkorpi, PH-Induced Changes in Polypeptide Conformation: Force-Field Comparison with Experimental Validation, *Journal of Physical Chemistry B* 124 (2020). <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c01475>.
- [191] M. Yao, L. Dong, Y. Fu, H. Li, G. Luo, A sensitive enzyme-free electrochemical sensor based on ZnWO₄@co-MNPC@MIP for specific recognition and determination of chloramphenicol in milk sample, *Food Chem.* 460 (2024) 140711.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140711>.
- [192] T. Schenk, I. Schuphan, B. Schmidt, High-performance liquid chromatographic determination of the rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa*, *J. Chromatogr. A* 693 (1995). [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)01127-Z](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)01127-Z).
- [193] R. Esposito, F. Taddeo, V. Russo, I. Russo Krauss, G. D'Errico, Surface and Aggregation Properties of Rhamnolipids in Water–Bioethanol Mixtures: A Step toward Green Formulation Design, *Surfaces* 7 (2024) 251–264.
<https://doi.org/10.3390/surfaces7020017>.
- [194] Z. Cao, Y. Hu, J. Li, Y. Kai, W. Yang, Solubility of glycine in binary system of ethanol+water solvent mixtures: Experimental data and thermodynamic modeling, *Fluid Phase Equilib.* 360 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2013.09.013>.
- [195] B.S. Pereira, C. de Freitas, F. Masarin, M. Brienzo, Xylooligosaccharides from Industrial Fruit and Restaurant Waste Produced by Liquid Hot Water Treatment, *Bioenergy Res.* 16 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10505-2>.
- [196] D. Chapla, P. Pandit, A. Shah, Production of xylooligosaccharides from corncob xylan by fungal xylanase and their utilization by probiotics, *Bioresour. Technol.* 115 (2012) 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.083>.
- [197] A.F.A. Carvalho, P. de O. Neto, D.F. da Silva, G.M. Pastore, Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis, *Food Research International* 51 (2013) 75–85.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.021>.
- [198] M. Gupta, R. Bangotra, S. Sharma, S. Vaid, N. Kapoor, H.C. Dutt, B.K. Bajaj, Bioprocess development for production of xylooligosaccharides prebiotics from sugarcane bagasse

- with high bioactivity potential, *Ind. Crops Prod.* 178 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114591>.
- [199] K. Ali, N. Niaz, M. Waseem, W. Ashraf, M. Hussain, M.U. Khalid, A. Bin Tahir, A. Raza, I.M. Khan, Xylooligosaccharides: A comprehensive review of production, purification, characterization, and quantification, *Food Research International* 201 (2025) 115631. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115631>.
- [200] A.A. Cardenas-Riojas, Y.F. Ascencio-Flores, D.S. Solis-Yancan, R. Palm, J. Nerut, R. Jäger, P. Möller, O. Volobujeva, M. Merisalu, A. La Rosa-Toro, A.M. Baena-Moncada, Electrochemical detection of Allura red azo dye using nitrogen-doped reduced graphene oxide based electrochemical sensor, *Microchemical Journal* 219 (2025) 116052. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2025.116052>.
- [201] Y. Jing, C. Gu, C. Wang, B. Zhang, An electrochemical sensor for detecting IL-6 expression following spinal cord injury, *RSC Adv.* 15 (2025) 46882–46889. <https://doi.org/10.1039/D5RA06654A>.
- [202] L.D. Burke, P.F. Nugent, *The Electrochemistry of Gold: I The Redox Behaviour of the Metal in Aqueous Media*, n.d.
- [203] Y. Wan, Y. Zhang, X. Wang, Q. Wang, Electrochemical formation and reduction of copper oxide nanostructures in alkaline media, *Electrochem. Commun.* 36 (2013) 99–102. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2013.09.026>.
- [204] T.S.S.K. Naik, B.E.K. Swamy, P.C. Ramamurthy, K. Chetankumar, Poly (L-leucine) modified carbon paste electrode as an electrochemical sensor for the detection of paracetamol in presence of folic acid, *Mater. Sci. Energy Technol.* 3 (2020) 626–632. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.07.003>.
- [205] X. Zheng, Y. Guo, J. Zheng, X. Zhou, Q. Li, R. Lin, Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid using poly(L-leucine)/DNA composite film modified electrode, *Sens. Actuators B Chem.* 213 (2015) 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.044>.
- [206] E. Sanz Rodríguez, G.L. Díaz-Arenas, S. Makart, D. Ghosh, A.F. Patti, G. Garnier, J. Tanner, B. Paull, Determination of xylooligosaccharides produced from enzymatic hydrolysis of beechwood xylan using high-performance anion-exchange chromatography tandem

- mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1666 (2022) 462836.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462836>.
- [207] M. Alyassin, G.M. Campbell, H. Masey O'Neill, M.R. Bedford, Simultaneous determination of cereal monosaccharides, xylo- and arabinoxyloligosaccharides and uronic acids using HPAEC-PAD, *Food Chem.* 315 (2020) 126221.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126221>.
- [208] R. Bhatia, A. Winters, D.N. Bryant, M. Bosch, J. Clifton-Brown, D. Leak, J. Gallagher, Pilot-scale production of xylo-oligosaccharides and fermentable sugars from *Miscanthus* using steam explosion pretreatment, *Bioresour. Technol.* 296 (2020) 122285.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122285>.