



UNESP - Universidade Estadual Paulista

Instituto de Química - Araraquara

Departamento de Química Analítica



TESE DE DOUTORADO

**DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CORANTES DE IMPORTÂNCIA
AMBIENTAL EMPREGANDO SENSORES QUÍMICOS BASEADOS EM
FIBRAS ÓPTICAS E POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS**

Marcos Vinicius Foguel

**Araraquara
2015**

Marcos Vinicius Foguel

**DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CORANTES DE IMPORTÂNCIA
AMBIENTAL EMPREGANDO SENSORES QUÍMICOS BASEADOS EM
FIBRAS ÓPTICAS E POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS**

Tese apresentada ao Instituto de Química
da Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Doutor em Química.

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

**Araraquara
2015**

MARCOS VINICIUS FOGUEL

Tese de Doutorado apresentada ao
Instituto de Química, Universidade
Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 27 de novembro de 2015.

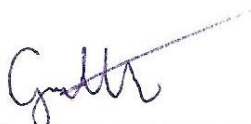
BANCA EXAMINADORA



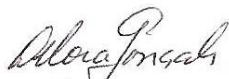
Prof^a. Dr^a. MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR (Orientadora)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara – SP



Prof. Dr. PAULO CLAIRMONT FEITOSA DE LIMA GOMES
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof. Dr. GUSTAVO TROIANO FELICIANO
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof^a. Dr^a. DÉBORA GONÇALVES
Instituto de Física / USP / São Carlos - SP



Prof. Dr. IVO MILTON RAIMUNDO JUNIOR
Instituto de Química / UNICAMP / Campinas – SP

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Miguel e Fátima, a
minha irmã Carol e a minha
sobrinha Ana Flávia, por todo amor
e apoio em todas as etapas e
escolhas da vida.*

*“Eu vejo um horizonte trêmulo
Eu tenho os olhos úmidos
Eu posso estar completamente enganado
Posso estar correndo pro lado errado
Mas a dúvida é o preço da pureza
E é inútil ter certeza.”
(Humberto Gessinger)*

*“Talvez não tenha conseguido fazer o
melhor, mas lutei para que o melhor fosse
feito. Não sou o que deveria ser, mas graças
a Deus, não sou o que era antes.”
(Marthin Luther King)*

*“As nuvens mudam sempre de posição, mas
são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser
todo dia, mutantes, porém leais com o que
pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se
desmancha no ar, menos os pensamentos.”
(Paulo Belecki)*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois o que seria de mim sem a fé que tenho Nele?

Aos meus pais, Miguel e Fátima, por todo o carinho, amor e apoio e que nunca mediram esforços em me ajudar a alcançar meus sonhos e objetivos, além da compreensão e paciência com minhas ausências nos últimos tempos.

A minha irmã Carol e a minha sobrinha Ana Flávia, pelo carinho, amor e momentos de alegria, diversão, risos e tristezas compartilhados.

À Prof.^a Dr.^a Maria Del Pilar Taboada Sotomayor por toda a confiança depositada, pelas inúmeras oportunidades dadas, por todo o ensinamento profissional e pessoal, pela paciência, incentivo e, principalmente, pela amizade.

Ao Prof. Dr. Karsten Haupt pela oportunidade, atenção e profissionalismo prestado durante o doutorado sanduíche realizado na *Université de Technologie de Compiègne* em Compiègne, França. À Dr.^a Jeanne-Bernadette Tse Sum Bui e à Dr.^a Xuan-Anh Ton pelo ensinamento, parceria e discussões científicas durante o intercâmbio. E aos integrantes do grupo pela imensa ajuda, amizade, viagens e diversão, em especial: Emel, Marcelina, Yi, Zeynep, Vitoria, Serena, Jacqueline, Jam e Tony...A todos vocês *Merci beaucoup!*

Aos alunos de IC que coorientei durante o doutorado (meus “filhos”): Rafael Rovatti Pupin, Tatiana Harumi Okubo e Natacha Thaisa Bello Pedro. Meu papel era ensinar a vocês, mas vocês não têm a noção do quanto me ensinaram. Além disso, me mostraram que estou certo em seguir nessa carreira acadêmica, pois adorei coorientá-los. Vocês sabem que nosso contato foi muito além do profissional, pois nos tornamos grandes amigos.

À Prof.^a Dr.^a Angela Regina Araujo e à M.^a Carolina Rabal Biasetto por toda disposição, imensa e valorosa contribuição nas discussões orgânicas do trabalho, principalmente nos experimentos de RMN.

Aos Professores Nelson R. Stradiotto, Maria Valnice Boldrin, Hideko Yamanaka e Fabíola Manhas Verbi Pereira pelas discussões, auxílio e ensinamento.

Às professoras Mary Rosa Rodrigues de Marchi e Edilene Cristina Ferreira pelas valiosas sugestões e contribuições no exame de qualificação.

Aos integrantes e amigos do GEAR pela amizade, colaboração, discussões, e descontração durante os cafezinhos, em especial: Eduardo, Mayara, Jefferson, Sabir, Felipe, Juliano, Guilherme, Lucas Neres, Pedro e Bruna. Um destaque e agradecimento especial aos integrantes que ficam ou já passaram pela “salinha”: Ju Brito, Rafa, Mariele, Glauco, Antonio, Carol Rocha, Tati, Luciano e Naira...muito obrigado a todos vocês pela imensa amizade construída, por me aguentarem nos dias de estresse e desânimo, pelas inúmeras risadas e histórias que passamos juntos, por toda a parceria e por tornarem esses anos incríveis e inesquecíveis.

Aos grandes amigos que fiz durante esses 10 maravilhosos anos em Araraquara, por todas as conversas, risadas, brincadeiras, distrações, companheirismos, lágrimas, baladas e ajuda nos momentos difíceis, em especial: Nathalie, Carol Rabal, Elaine, Higor, Vinicius, Josiel, Miguel, Jer, Thaila, Michele de Souza, Blossom, Dani e Jefferson, Natacha, Lucio, Rafa Ciola, Carneiro, Livia, Ademar, Fernanda (Matinha), Carol Venturi, Thaís, Zdenka, Fer Begnini, Rachel, Vareta, Nayara, Ana Elisa e Aline Tonatto.

Às pessoas que me acolhem tão bem em Araraquara desde 2005: Dona Luzia, Ivanir e Tia Luiza.

À Dr.^a Bianca Ferreira da Silva pela realização das análises de espectrometria de massa e à M.^a Lilian Torquato pela realização das análises termogravimétricas.

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

A todos os funcionários e técnicos do Instituto de Química, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, em especial: Lucinéia, Nivaldo e Neide.

Ao Instituto de Química da UNESP pela infraestrutura e acolhida durante esses anos.

À FAPESP por todo suporte financeiro.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“Cada um que passa em nossa vida passa sozinho, pois cada pessoa é única, e nenhuma substitui a outra. Cada um que passa em nossa vida passa sozinho, mas não vai só nem nos deixa só. Leva um pouco de nós mesmos, deixa um pouco de si mesmo. Há os que levam muito, mas há os que não levam nada. Essa é a maior responsabilidade de nossa vida, e a prova de que duas almas não se encontram ao acaso.”

(Antoine de Saint-Exupéry)

CURRICULUM VITAE

DADOS PESSOAIS

Nome: Marcos Vinicius Foguel

Data de Nascimento: 16 de fevereiro de 1987

Naturalidade: Limeira - SP

Nacionalidade: Brasileiro

Estado Civil: Solteiro

Filiação: Miguel Foguel e Rosa Fátima de Almeida Foguel

FORMAÇÃO ACADÊMICA

- Doutorado em Química: UNESP - Universidade Estadual Paulista, Araraquara/SP

Período: Agosto 2011 - Novembro 2015

Título da tese: Detecção e quantificação de corantes de importância ambiental empregando sensores biomiméticos baseados em fibras ópticas e polímeros molecularmente impressos

Bolsa: FAPESP (Processo nº 2011/17552-0)

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

- Mestrado em Química Analítica: UNESP - Universidade Estadual Paulista, Araraquara/SP

Período: Março 2009 - Junho 2011

Título da Dissertação: Desenvolvimento de imunossensores para aflatoxina B₁

Bolsa: FAPESP (Processo nº 2008/07729-8)

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Hideko Yamanaka

- Bacharelado em Química: UNESP - Universidade Estadual Paulista, Araraquara/SP

Período: Março 2005 - Dezembro 2008

Título da monografia: Modificação e caracterização de CDtrodo de ouro com monocamada de tiol e proteína *T. cruzi*

Bolsa: FAPESP (Processo nº 2007/04227-9)

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Hideko Yamanaka

FORMAÇÃO ADICIONAL

- Doutorado Sanduíche: Université de Technologie de Compiègne, Compiègne/França

Período: Abril 2013 - Agosto 2013

Título do projeto: Molecularly imprinted polymers immobilization on optical fiber for the development of biomimetic sensors for textile dyes

Bolsa: FAPESP (Processo nº: 2013/02576-7)

Orientador: Prof. Dr. Karsten Haupt

- Mestrado Sanduíche: Masaryk University, Brno, República Tcheca

Período: Junho 2010 - Setembro 2010

Título do projeto: Biomimetic sensors as new generation of biotechnological devices for food safety and quality monitoring

Bolsa: 7th Frame Program IRSES (PIRSES-GA-2008-230849)

Orientador: Prof. Dr. Petr Skládal

PUBLICAÇÕES

- Artigos Publicados

1. FOGUEL, M. V.; TON, X.-A.; ZANONI, M. V. B.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; HAUPT, K.; BUI TSE SUM, B. A molecularly imprinted polymer-based evanescent wave fiber optic sensor for the detection of basic red 9 dye. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 218, p. 222-228, 2015.
2. WONG, A.; FOGUEL, M. V.; KHAN, S.; OLIVEIRA, F. M.; TARLEY, C. R. T., SOTOMAYOR, M. D. P. T. Development of an electrochemical sensor modified with MWCNT-COOH and MIP for detection of diuron. **Electrochimica Acta**, v. 182, p. 122-130, 2015.
3. PRADO, T. M., FOGUEL, M. V.; GONÇALVES, L. M.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. β -lactamase-based biosensor for the electrochemical determination of benzylpenicillin in milk. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 210, p. 254-258, 2015.
4. FOGUEL, M. V.; SANTOS, G. P.; FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H.; BENEDETTI, A. V. Amperometric immunosensor for Chagas disease using gold CD-R transducer. **Electroanalysis**, v. 23, p. 2555-2561, 2011.
5. FOGUEL, M. V.; ULIANA, C. V.; TOMAZ, P. R. U.; MARQUES, P. R. B.; YAMANAKA, H.; FERREIRA, A. A. P. Avaliação da limpeza de CD trocado construídos a partir de CD de ouro gravável/fita adesiva de galvanoplastia. **Eclética Química**, v. 34, p. 59-66, 2009.

- Artigo aceito para publicação

FOGUEL, M. V.; SANTOS, G. P.; FERREIRA, A. A. P.; MAGNANI, M.; MASCINI, M.; SKLADAL, P.; BENEDETTI, A. V.; YAMANAKA, H. Comparison of gold CD-R types as electrochemical device and as platform for biosensors. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2015. doi: 10.5935/0103-5053.20150308.

- Capítulo de livro

FERREIRA, A. A. P.; ULIANA, C. V.; CASTILHO, M. S.; PESQUERO, N. C.; FOGUEL, M. V.; SANTOS, G. P.; FUGIVARA, C. S.; BENEDETTI, A.V.; YAMANAKA, H. **Amperometric biosensor for diagnosis of disease**. In: State of the Art in Biosensor: Environmental and Medical Applications, Rijeka, Croatia, InTech, 2013.

CONGRESSOS CIENTÍFICOS MAIS RELEVANTES

- FOGUEL, M. V., BIASETTO, C. R., ARAUJO, A. R., ZANONI, M. V. B., SOTOMAYOR, M. P. T. “Physical-chemistry characterization of molecularly imprinted polymers (MIP) for dye Basic Red 9”, **XIV Encontro da SBPMat (Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais)**, 2015, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

- PUPIN, R. R., FOGUEL, M. V., SOTOMAYOR, M. P. T. “Synthesis and characterization of magnetic molecularly imprinted polymer (Mag-MIP) for penicillin G”, **XIV Encontro da SBPMat (Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais)**, 2015, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

- FOGUEL, M. V.; ZANONI, M. V. B.; SOTOMAYOR, M. P. T. “Inmovilización de polímeros impresos molecularmente (MIP) en fibra óptica para el desarrollo de optodos selectivos a colorantes textiles en aguas residuales”, **31º Congreso Latinoamericano de Química**, 2014, Lima, Peru.

- PEDRO, N. T. B.; FOGUEL, M. V.; ZANONI, M. V. B.; SOTOMAYOR, M. P. T. “Síntesis y evaluación de los polímeros impresos molecularmente (MIP) para la determinación del colorante verde ácido 16”, **31º Congreso Latinoamericano de Química**, 2014, Lima, Peru.

- FOGUEL, M. V.; TON, X.; BUI, B. T. S.; ZANONI, M. V. B.; SOTOMAYOR, M. P. T.; HAUPT, K. “Interação do corante vermelho básico 9 ao polímero impresso molecularmente (MIP) em solução e imobilizado sobre a superfície da fibra óptica para desenvolvimento de sensores ópticos”, **37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2014, Natal, RN, Brasil.

- FOGUEL, M. V.; PUPIN, R. R.; BUI, B. T. S.; HAUPT, K.; ZANONI, M. V. B.; SOTOMAYOR, M. P. T. “Interação entre o corante vermelho básico 9 com polímero impresso molecularmente (MIP)”, **17º Encontro Nacional de Química Analítica**, 2013, Belo Horizonte, MG, Brasil.

- FOGUEL, M. V.; MASCINI, M.; ZANONI, M. V. B.; SOTOMAYOR, M. P. T. “Investigation about interaction of biomimetic polymer with the basic red 9 dye using affinity isotherm”, **International Conference on Bioinspired and Biobased Chemistry & Materials (Nature Inspires Chemistry Engineers)**, 2012, Nice, França.
- FOGUEL, M. V., SOTOMAYOR, M. P. T. “Utilização da simulação computacional na síntese de MIP para o corante vermelho básico 9 e confirmação experimental através de isotermas de ligação”, **I Escola Internacional de Corantes: Análise, Degradação e Toxicidade**, 2012, Araraquara/SP, Brasil.
- FOGUEL, M. V.; FERREIRA, A. A. P.; BENEDETTI, A. V.; MASCINI, M.; SKLADAL, P.; YAMANAKA, H. “Electrochemical Impedance Spectroscopy on Gold CDtrode Modified with lipoic acid for Aflatoxin B1 Immunosensor Development”, **Biosensors 2010 - 20th World Congress on Biosensors**, 2010, Glasgow, Escócia.
- FOGUEL, M. V.; YAMANAKA, H.; BENEDETTI, A. V.; FERREIRA, A. A. P. “CDtrodo de ouro modificado com SAM de 4-(metilmercapto)benzaldeído no desenvolvimento de imunossensor”, **6th Ibero-American Congress on Sensors (IBERSENSOR)**, 2008, São Paulo, SP, Brasil.
- FOGUEL, M. V.; FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H. “Amperometric immunosensor using gold CDtrodes and Tc85 protein from Trypanosoma cruzi”, **7th International Congress of Pharmaceutical Sciences (CIFARP)**, 2009, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

OUTRAS EXPERIÊNCIAS ACADÊMICAS

- Coorientação de alunos de iniciação científica:

1. Tatiana Harumi Okubo: Projeto intitulado: Síntese de polímeros biomiméticos nanomagnéticos para tetraciclina (Ago. 2014 - Jun. 2015);
2. Rafael Rovatti Pupin: Projeto intitulado: Síntese de polímeros biomiméticos nanomagnéticos para penicilina G (Mar. 2012 - Dez. 2014);
3. Natacha Thaisa Bello Pedro: Projeto intitulado: Desenvolvimento de optodos biomiméticos usando polímeros molecularmente impressos para medidas seletivas e sensíveis de corantes de importância ambiental (Mai. 2014 - Dez. 2014);
4. Gabriela Furlan Giordano: Projeto intitulado: Desenvolvimento de metodologia para detecção de aflatoxina em alimento (Fev. 2009 - Mai 2010).

- Estágio docência:

Química Analítica Qualitativa: na Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Araraquara, Brasil. Supervisoras: Prof.^a Dr.^a Maria Del Pilar Taboada Sotomayor e Prof.^a Dr.^a Mirian Cristina dos Santos.

ATIVIDADES EXTRACURRICULARES

1. Membro da comissão organizadora dos seguintes eventos: I Escola Internacional de Corantes: Análise, Degradação e Toxicidade, Araraquara - SP, 2012; 17º Encontro da SBQ-Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti, Araraquara – SP, 2009; Workshop Nacional sobre Biossensores, Araraquara - SP, 2009; IV Comemoração do Dia do Químico, Araraquara - SP, 2008; III Comemoração do Dia do Químico, Araraquara - SP, 2007; II Comemoração do Dia do Químico, Araraquara - SP, 2006.
2. Participação da Química Júnior Projetos e Consultorias, Empresa Júnior do Instituto de Química da UNESP - Araraquara, nos seguintes cargos: Gerente de Projetos (Gestão 2005/2006), Gerente de Marketing (Gestão 2006/2007), Gerente de Recursos Humanos (Gestão 2007/2008).

RESUMO

Efluentes industriais contendo corantes são diariamente liberados no meio ambiente. O lançamento de efluentes têxteis provoca uma degradação ambiental considerável, modificando a coloração natural e prejudicando o sistema biológico aquático. Dentre esses corantes, a classe de corantes trifenilmetano é largamente empregada na indústria têxtil e apresenta problemas à saúde pública e ao meio ambiente quando despejados nos efluentes, devido à alta toxicidade e difícil degradação. Uma alternativa para a detecção e quantificação destes compostos é o desenvolvimento de sensores biomiméticos com transdução óptica, empregando como sistema de reconhecimento polímeros molecularmente impressos (MIP). A vantagem desta metodologia é a boa seletividade, sensibilidade, estabilidade dos MIP e baixo custo dos materiais empregados. O presente trabalho explora diferentes sínteses de polímeros impressos para os corantes têxteis: Vermelho Básico 9 (BR9), Verde Ácido 16 (AG16) e Verde de Metila (MG). Para isso foram avaliadas sínteses com diferentes monômeros funcionais e proporções molares entre os reagentes empregados para a polimerização. Todos os MIP apresentaram melhor desempenho na proporção 1:3:200 de molécula molde, monômero funcional e monômero estrutural, respectivamente. O corante BR9 mostrou boa interação com o monômero funcional ácido 2-acrilamino-2-metilpropano sulfônico por meio de ligação de hidrogênio, enquanto que os corantes AG16 e MG apresentaram afinidade com o monômero 1-vinilimidazol, por meio de interação íon-dipolo e π -cátion, respectivamente. Os MIP para os corantes BR9 e AG16 apresentaram boa porcentagem de religação (70 e 86%, respectivamente), fatores de impressão bastante satisfatórios (1,82 e 6,91, respectivamente) alta seletividade frente a outros corantes têxteis e grande eficiência na extração dos respectivos corantes em amostra de efluente industrial têxtil, apresentando recuperações próximas de 100%. Já o MIP para o corante MG não obteve resultados satisfatórios, apresentando valores de religação inferiores a 20%. Provavelmente, o mau desempenho deste MIP deve-se a algum problema durante a polimerização. Diversas rotas para a imobilização do MIP-BR9 sobre fibras ópticas foram avaliadas. A imobilização via silanização ou oclusão em fibras ópticas de vidro não apresentou bons resultados, enquanto que a imobilização em fibra de poliestireno por oclusão usando PVA foi eficiente e mostrou-se promissora para o desenvolvimento de sensores biomiméticos ópticos e aplicação para a determinação de corantes em amostras de diferentes matrizes de interesse ambiental.

ABSTRACT

Industrial effluents containing dyes are daily released to the environment. The launch of textile effluents causes a considerable environmental degradation, changing the natural color and harming the aquatic biological system. Among these dyes, the class of triphenylmethane dyes is widely used in the textile industry and it presents problems to public health and the environment when discharged in the effluent due to the high toxicity and difficult degradation. An alternative for the detection and quantification of these compounds is the development of biomimetic sensors with optical transduction, employing Molecularly Imprinted Polymers (MIP) as recognition system. The advantage of this methodology is the good selectivity, sensitivity and stability of the MIP and low cost of materials. This work explores different synthesis of MIP for the textile dyes: Basic Red 9 (BR9), Acid Green 16 (AG16) and Methyl Green (MG). For this, the syntheses were evaluated with different functional monomers and molar ratios among the reagents employed for the polymerization. All MIP showed better performance in the ratio 1:3:200 of template, functional monomer and structural monomer, respectively. The dye BR9 showed good interaction with the functional monomer 2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid by hydrogen bonding, while the dyes MG and AG16 have affinity with the monomer 1-vinylimidazole, by electrostatic and π -cation interaction, respectively. MIP for dyes BR9 and AG16 have good percentage of rebinding (70 and 86%, respectively), satisfactory imprinting factor (1.82 e 6.91, respectively), high selectivity in comparison with other textile dyes and high efficiency in extraction of the respective dyes in sample of textile industrial effluent, presenting recoveries around of 100%. However, the MIP for the dye MG has not presented satisfactory results, with rebinding values below 20%. Probably the MIP performance was not good due to problems during polymerization. Several routes for the MIP-BR9 immobilization on optical fibers were evaluated. Immobilization by silanization or occlusion on the glass optical fibers did not present good results, while the immobilization on polystyrene fiber by occlusion using PVA was efficient and showed promise for the development of optical biomimetic sensors and for the application to determine dyes in different matrices of environmental interest.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do corante Vermelho Básico 9 (BR9).	33
Figura 2 - Estrutura do corante Verde Ácido 16 (AG16).	33
Figura 3 - Estrutura do corante Verde de Metila (MG).	34
Figura 4 - Esquema da síntese de polímeros molecularmente impressos (MIP).	41
Figura 5 - Estrutura do etileno-glicol-dimetacrilato (EGDMA).	42
Figura 6 - Mecanismo de polimerização radicalar do EGDMA empregando AIBN com iniciador.	43
Figura 7 - Estrutura do 4,4'-dianimodifenilmetano (APM).	56
Figura 8 - Estrutura dos corantes empregados como interferentes com o respectivo comprimento de onda de absorção máximo: Vermelho Ácido 1 (AR1), Violeta Direto 51 (DV51), Vermelho Ácido 114 (AR114) e Amarelo Direto 50 (DY50).	60
Figura 9 - Esquema do empacotamento do MIP em um cartucho SPE.	61
Figura 10 - Esquema da imobilização do MIP para o corante BR9 sobre o guia de luz de poliestireno.	62
Figura 11 - Esquema do feixe bifurcado de fibra óptica para o desenvolvimento do sensor óptico, sendo (A) a extremidade que é acoplada a fonte de radiação, (B) a fase sensora contendo o MIP imobilizado que estará em contato com a amostra e (C) a extremidade que é acoplada ao detector do espectrofotômetro.	63
Figura 12 - Esquema da detecção do corante BR9 empregando o espectrofluorímetro Horiba.	65
Figura 13 - Espectro de absorbância na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água. <i>Inset</i> : Curva analítica referente à absorbância máxima em 545 nm.	66
Figura 14 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 288 (BR9) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 288 em 4,22 min para o padrão BR9.	68
Figura 15 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 288 (BR9) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 288 em 4,23 min para a solução de corante BR9 exposta à luz solar por 7 dias.	69
Figura 16 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 288 (BR9) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 288 em 4,25 min para a solução de corante BR9 exposta à luz solar por 20 dias.	70

Figura 17 - Média dos resultados das simulações realizadas para avaliar a energia da interação entre três diferentes confôrmeros do corante BR9 com os 20 monômeros propostos da Tabela 1.....	71
Figura 18 - Espectros de absorção na região UV-Vis das soluções de lavagem do MIP sintetizado com o monômero acrilonitrila em diferentes tempos de lavagem. <i>Inset</i> : Ampliação dos espectros de absorção na região do visível entre 400 e 600 nm.	73
Figura 19 - Espectro de absorção na região UV-Vis das soluções de lavagem do NIP sintetizado com o monômero acrilonitrila em diferentes tempos de lavagem.	73
Figura 20 - Isoterma de adsorção do corante BR9 para o NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL e tempo de interação de 12 h.	74
Figura 21 - Isoterma de adsorção do corante BR9 para o NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL e tempo de interação de 12 h.	75
Figura 22. Estudo do tempo de interação do corante BR9 ao NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL e concentração do corante BR9 de 100 mg L ⁻¹	76
Figura 23 - Estudo de pH para a interação do corante BR9 com o NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL, tempo de interação de 60 min e concentração do corante BR9 de 100 mg L ⁻¹ , n = 3.	77
Figura 24 - Estudo de solução para a interação dos adsorventes com o corante BR9 diluído em água ou em solução HCl-KCl 0,05 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL, pH = 2, tempo de interação de 60 min e concentração do corante BR9 de 100 mg L ⁻¹	78
Figura 25 - Estudo da massa de adsorvente para a religação do corante BR9 ao NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: volume de 3 mL, tempo de interação de 60 min e concentração do corante BR9 de 100 mg L ⁻¹ em solução tampão HCl-KCl 0,05 mol L ⁻¹ a pH 2,0.	78
Figura 26 - (A) Curva da absorbância no comprimento de onda de 243 nm em função do pH. (B) Primeira derivada obtida da curva da Figura 13A.....	79
Figura 27 - Esquema das estruturas do corante BR9 em função do pK _a	80
Figura 28 - Isoterma de adsorção do corante BR9 para o NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL da solução do analito diluído em solução HCl-KCl 0,05 mol L ⁻¹ a pH 2,0 e tempo de interação de 60 min.....	81
Figura 29 - Análises de ligação entre o corante BR9 10 µmol L ⁻¹ e o polímero 1:3:20 em (A) água, (B) NH _{3(aq.)} 1,0% (v/v) e (C) NH _{3(aq.)} 0,05% (v/v).....	83

Figura 30 - Análise da ligação do corante BR9 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero 1:3:200 em (A) água, (B) NH_3 (aq.) 1,0% (v/v) e (C) NH_3 (aq.) 0,05% (v/v).	84
Figura 31 - Análise de ligação do corante BR9 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero 1:3:200 em (A) 0,01%, (B) 0,025% e (C) 0,05% de NH_3 (aq.).	85
Figura 32 - Análise de ligação do corante BR9 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero sintetizado pelo método da precipitação em NH_3 (aq.) 0,05% (v/v).	86
Figura 33 - Análise do tempo de interação entre o corante BR9 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 4,0 mg mL^{-1} de polímero em NH_3 (aq.) 0,05% (v/v).	87
Figura 34 - Análise de ligação do corante BR9 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para diferentes lotes de polímeros 1:3:200 em NH_3 (aq.) 0,05% (v/v).	88
Figura 35 - Análises de ligação do corante BR9 na concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero sintetizado com o APM como molécula molde em NH_3 (aq.) 0,05% (n=3).	89
Figura 36 - Imagens dos tubos eppendorf® do estudo de ligação após centrifugação com diferentes concentrações de MIP e NIP (mg mL^{-1}) sintetizados com ACR (A) e AMPSA (B) como MF.	90
Figura 37 - Análise da ligação do corante BR9 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero sintetizado com o MF ACR (A) e AMPSA (B).	91
Figura 38 - Mapa de contorno de DOSY da mistura entre BR9 e AMPSA (MeOH-d_4 , 600 MHz).	92
Figura 39 - Espectro de RMN de ^1H do corante BR9 (DMSO-d_6 , 300 MHz).	93
Figura 40 - Espectro de RMN de ^{13}C do corante BR9 (DMSO-d_6 , 300 MHz).	93
Figura 41 - Mapa de contorno de HMBC (^1H - ^{15}N) do corante BR9 (DMSO-d_6 , 300 MHz).	94
Figura 42 - Espectro de RMN de ^1H do monômero funcional AMPSA (DMSO-d_6 , 300 MHz).	94
Figura 43 - Espectro de RMN de ^{13}C do monômero funcional AMPSA (DMSO-d_6 , 300 MHz).	95
Figura 44 - Mapa de contorno de HMBC (^1H - ^{15}N) do monômero funcional AMPSA (DMSO-d_6 , 300 MHz).	95
Figura 45 - Espectro de RMN de ^1H da mistura entre BR9 e AMPSA (DMSO-d_6 , 300 MHz).	96
Figura 46 - Espectro de RMN de ^{13}C da mistura entre BR9 e AMPSA (DMSO-d_6 , 300 MHz).	96
Figura 47 - Mapa de contorno de HMBC (^1H - ^{15}N) da mistura BR9-AMPSA (DMSO-d_6 , 300 MHz).	97

Figura 48 - Espectros de RMN de ^1H do corante BR9 (azul), do monômero funcional AMPSA (verde) e da mistura BR9-AMPSA (vermelho) (DMSO- d_6 , 600 MHz).....	97
Figura 49 - Atribuição dos carbonos e hidrogênios para: (A) o corante BR9 e (B) o monômero funcional AMPSA.....	99
Figura 50 - Proposta para a interação entre BR9-AMPSA.....	100
Figura 51 - Imagens de FEG-SEM do NIP e MIP.....	100
Figura 52 - Espectro na região do infravermelho do MIP após remoção da MM e do corante BR9.....	101
Figura 53 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do monômero funcional AMPSA.....	102
Figura 54 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do monômero estrutural EGDMA.....	103
Figura 55 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do iniciador AIBN.....	104
Figura 56 - Espectro na região do infravermelho do NIP e MIP lavados e após a religação do corante BR9 a esses polímeros.....	105
Figura 57 - Análise termogravimétrica (preto) e análise térmica diferencial (vermelho) para o NIP (A) e MIP (B) para o corante BR9.....	106
Figura 58 - Análises de ligação entre o corante BR9 e o polímero AMPSA na proporção 1:3:200. Condições experimentais: $10\ \mu\text{mol L}^{-1}$ de BR9; solvente: água; tempo de interação de 4 h; $n=3$	107
Figura 59 - Isoterma de adsorção do corante BR9 ao NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: $8\ \text{mg mL}^{-1}$ de polímero; solvente: água; tempo de interação de 4 h; $n=3$	108
Figura 60 - Tipos de isotermas denominadas de I a VI.....	109
Figura 61 - Isoterma de adsorção do corante BR9 ao NIP (■) e MIP (●) com um maior intervalo de concentração do analito. Condições experimentais: $8\ \text{mg mL}^{-1}$ de polímero; solvente: água; tempo de interação de 4 h; $n=3$	110
Figura 62 - Ligação dos diferentes corantes têxteis ao MIP e NIP para BR9. Condições experimentais: concentração dos corantes: $50\ \mu\text{mol L}^{-1}$; concentração polimérica: $8\ \text{mg mL}^{-1}$; solvente: água; tempo de interação: 4 h; $n=3$. O comprimento de onda utilizado para o monitoramento foi o característico de cada um dos corantes.....	112
Figura 63 - Imagens de FEG-SEM da superfície de fibra óptica de poliestireno recoberta com NIP e MIP com magnificação de 100 (A, B), 3.000 (C, D) e 10.000 (E, F), respectivamente.....	115

Figura 64 - Análise da ligação do corante BR9 aos polímeros imobilizados sobre a superfície das fibras ópticas em água.	116
Figura 65 - Análise do tempo interação entre o corante BR9 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e os polímeros imobilizados sobre a fibra óptica em água.	117
Figura 66 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica para o monitoramento com diferentes intensidades de luz: (A) 15 W; (B) 30 W; (C) 50 W; (D) 75 W e (E) 100 W.	119
Figura 67 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica para o monitoramento (A). Curva analítica da reflectância difusa em 547 nm em função da concentração do corante BR9 (B).	120
Figura 68 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica bifurcada de vidro com o MIP imobilizado via oclusão com PVA, sendo o branco do equipamento adquirido com a fibra já com o MIP imobilizado antes de qualquer adição da solução padrão.	121
Figura 69 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica bifurcada de vidro com o MIP imobilizado via oclusão com PVA, sendo o branco do equipamento adquirido com a fibra já com o MIP imobilizado antes de qualquer adição da solução padrão.	122
Figura 70 - Espectros de reflectância difusa na região do UV-Vis da fibra óptica sem o MIP imobilizado (—), com o MIP imobilizado via oclusão com PVA após religação do corante BR9 ao MIP (—), após a primeira (—) e segunda (—) lavagem com etanol, seguida de uma (—) e duas (—) lavagens com acetona.	123
Figura 71 - Estrutura do agente silanizante VTES.	124
Figura 72 - Espectros de reflectância difusa na região do UV-Vis da fibra óptica sem o MIP imobilizado (—), com o MIP imobilizado via silanização com VTES antes da remoção da molécula molde (—), após três lavagens sucessivas com metanol/ácido acético (7:3) e uma lavagem em metanol (—) e após a lavagem anterior mais lavagem em HNO_3 1,0% durante 30 min sob agitação (—).	124
Figura 73 - Estrutura do agente silanizante MPS.	125
Figura 74 - Espectros de reflectância difusa na região do UV-Vis da fibra óptica sem o MIP imobilizado (—), com o MIP imobilizado via silanização com MPS antes da remoção da molécula molde (—), após três lavagens sucessivas com metanol/ácido acético na proporção 7:3 (—) e após a lavagem anterior mais lavagem em HNO_3 10% (—), sendo todas essas	

medidas realizadas com a fibra imersa em água; e com a extremidade da fibra modificada, após todas as lavagens anteriores, imersa em HCl 10% (—).	126
Figura 75 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica com o MIP imobilizado via silanização com MPS, sendo o branco do equipamento adquirido com a fibra já com o MIP imobilizado após a remoção da molécula molde da estrutura polimérica.	127
Figura 76 - Espectros de absorbância na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante AG16 dissolvido em água. <i>Inset</i> : Curva analítica referente à absorbância em 640 nm.	128
Figura 77 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 595 (AG16) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 595 em 5,46 min para o padrão AG16.	129
Figura 78 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 595 (AG16) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 595 em 6,07 min para a solução de corante AG16 exposta à luz solar por 7 dias.	130
Figura 79 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 595 (AG16) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 595 em 5,76 min para a solução de corante AG16 exposta à luz solar por 20 dias.	131
Figura 80 - Média dos resultados das simulações realizadas para avaliar a energia da interação entre três diferentes confôrmeros do corante verde ácido 16 com os 20 monômeros propostos (Tabela 1).	132
Figura 81 - Espectro de RMN de ^1H do corante AG16 (MeOH- d_4 , 600 MHz).	134
Figura 82 - Espectro de RMN ^1H do monômero funcional 1VI (MeOH- d_4 , 600 MHz).	134
Figura 83 - Espectro de RMN de ^1H da mistura do corante AG16 com o monômero funcional 1VI (MeOH- d_4 , 600 MHz).	135
Figura 84 - Espectro de RMN de ^{13}C do corante AG16 (MeOH- d_4 , 600 MHz).	136
Figura 85 - Espectro de RMN de ^{13}C do monômero funcional 1VI (MeOH- d_4 , 600 MHz).	136
Figura 86 - Espectro de RMN de ^{13}C da mistura do corante AG16 com o monômero funcional 1VI (MeOH- d_4 , 600 MHz).	137
Figura 87 - Atribuição dos carbonos e hidrogênios monômero funcional 1VI.	138
Figura 88 - Espectro de RMN de ^{13}C da mistura do corante AG16 com o monômero funcional 1VI com 6 segundos de relaxação (MeOH- d_4 , 600 MHz).	138

Figura 89 - Espectros de RMN de ^{13}C do corante AG16 (azul), do monômero funcional 1VI (verde) e da mistura AG16-1VI (vermelho) (MeOH-d_4 , 600 MHz).	139
Figura 90 - Proposta para a interação entre AG16-1VI.....	140
Figura 91 - Análises de religação do corante AG16 aos polímeros com razão molar de (A) 1:3:20 e (B) 1:3:200 de MM:MF:ME. Condições experimentais: concentração do analito de $30\ \mu\text{mol L}^{-1}$ em água, tempo de interação de 60 min.	140
Figura 92 - Isoterma de adsorção do corante AG16 para os polímeros com razão molar de (A) 1:3:20 e (B) 1:3:200 de MM:MF:ME. Condições experimentais: concentração de polímero de $5\ \text{mg mL}^{-1}$ em água e tempo de interação de 60 min.....	141
Figura 93 - Análises de ligação entre o corante AG16 $30\ \mu\text{mol L}^{-1}$ e o polímero 1:3:200 em solução tampão B-R $0,04\ \text{mol L}^{-1}$ a pH 2 (A), 5 (B), 7 (C), 9 (D) e 12 (E).	143
Figura 94 - (A) Curva da absorbância no comprimento de onda de 640 nm em função do pH. (B) Primeira derivada obtida da curva da A.	144
Figura 95 - Esquema das estruturas do corante AG16 em função do pK_a	144
Figura 96 - Isoterma de adsorção do corante AG16 aos polímeros. Condições experimentais: concentração polimérica de $5\ \text{mg mL}^{-1}$ em solução tampão B-R a pH 9 e tempo de interação 60 min.	145
Figura 97 - Estudo do tempo de interação entre o corante AG16 e os polímeros no intervalo de tempo de 15 a 720 min. Condições experimentais: concentração polimérica: $5\ \text{mg mL}^{-1}$, concentração de corante: $30\ \text{mg L}^{-1}$ em solução tampão B-R a pH 9.	146
Figura 98 - Replicada das curvas de isotermas de adsorção. Condições experimentais: concentração polimérica de $5\ \text{mg mL}^{-1}$ em solução tampão B-R a pH 9 com tempo de interação de 720 min.....	147
Figura 99 - Análises de ligação entre o corante AG16 aos polímeros. Condições experimentais: concentração de corante $30\ \mu\text{mol L}^{-1}$ em água e com tempo de interação de 1 h; $n = 4$	148
Figura 100 - Estudo do tempo de interação do corante AG16 aos polímeros no intervalo de tempo de 15 a 480 min. Condições experimentais: concentração polimérica $8\ \text{mg mL}^{-1}$, concentração de corante $30\ \mu\text{mol L}^{-1}$ em água.	149
Figura 101 - Isoterma de adsorção do corante AG16 aos polímeros. Condições experimentais: concentração polimérica $8\ \text{mg mL}^{-1}$ em água com tempo de interação de 60 min; $n = 3$	150
Figura 102 - Imagens de FEG-SEM do NIP e MIP para o corante AG16.	151
Figura 103 - Espectro na região do infravermelho do MIP e do corante AG16.	152

Figura 104 - Espectro na região do infravermelho do MIP e do monômero funcional 1VI.....	153
Figura 105 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do monômero estrutural EGDMA.	154
Figura 106 - Análise termogravimétrica (preto) e análise térmica diferencial (vermelho) para o NIP (A) e MIP (B) para o corante AG16.....	155
Figura 107 - Ligação dos diferentes corantes têxteis ao MIP e NIP para AG16. Condições experimentais: concentração dos corantes 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$; concentração polimérica 8 mg mL^{-1} em água e com tempo de interação de 1 h; n=3. O comprimento de onda utilizado para o monitoramento foi o característico de cada um dos corantes.....	156
Figura 108 - Espectro de absorbância na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante MG dissolvido em água. <i>Inset</i> : Curva analítica referente à absorbância máxima em 632 nm.	158
Figura 109 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 200,8 (MG) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 200,8 em 3,53 min para o padrão MG.....	159
Figura 110 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 200,8 (MG) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 200,8 em 4,06 min para a solução de corante MG exposta à luz solar por 7 dias.....	160
Figura 111 - TIC (cromatograma de íon totais) e XIC (cromatograma de íon extraído) para a solução de corante MG exposta à luz solar por 20 dias.....	161
Figura 112 - Média dos resultados das simulações realizadas para avaliar a energia da interação entre três diferentes conformêros do corante Verde de Metila com os 20 monômeros propostos.....	162
Figura 113 - Espectro de RMN de ^1H do corante MG (DMSO- d_6 , 300 MHz).	163
Figura 114 - Espectro de RMN de ^1H do monômero funcional 1VI (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	164
Figura 115 - Espectro de RMN de ^1H da mistura MG-1VI (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	164
Figura 116 - Espectro de RMN de ^1H do corante MG (azul), do monômero funcional 1VI (verde) e da mistura MG-1VI (vermelho) (DMSO- d_6 , 300 MHz).	165
Figura 117 - Proposta para a interação entre MG-1VI.	166
Figura 118 - Espectro de RMN de ^1H do monômero funcional MAA (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	166
Figura 119 - Espectro de RMN de ^1H da mistura MG-MAA (DMSO- d_6 , 300 MHz).	167

Figura 120 - Espectro de RMN de ^1H do corante MG (azul), do monômero funcional MAA (verde) e da mistura MG-MAA (vermelho) (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	167
Figura 121 - Imagens de FEG-SEM do NIP e MIP para o corante AG16.	168
Figura 122 - Espectro na região do infravermelho do MIP e do corante MG.....	169
Figura 123 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do monômero estrutural EGDMA.	170
Figura 124 - Análise termogravimétrica (preto) e análise térmica diferencial (vermelho) para o NIP (A) e MIP (B) para o corante BR9.	171
Figura 125 - Análise de ligação entre o corante MG aos polímeros. Condições experimentais: concentração de corante $20\ \mu\text{mol L}^{-1}$ em água com tempo de interação de 1 h; $n = 3$	172
Figura 126 - Estudo do tempo de interação do corante MG ao NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: concentração polimérica $8\ \text{mg mL}^{-1}$; concentração de corante: $20\ \mu\text{mol L}^{-1}$ em água.....	173
Figura 127 - Isoterma de adsorção do corante MG aos polímeros. Condições experimentais: concentração polimérica $8\ \text{mg mL}^{-1}$ em água e com tempo de interação de 8 h; $n = 3$	174

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Monômeros comumente utilizados na síntese de MIP e escolhidos para realização da simulações computacionais.....	53
Tabela 2 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP empregando a acrilonitrila como monômero funcional.....	55
Tabela 3 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP empregando o MAA como monômero funcional.....	55
Tabela 4 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP empregando o AMPSA como monômero funcional.....	56
Tabela 5 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP empregando o APM como molécula molde.	56
Tabela 6 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP para o corante AG16.	57
Tabela 7 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP para o corante MG.	57
Tabela 8 - Deslocamento químico (δ) do RMN de ^1H e ^{13}C do corante BR9 livre e da mistura entre BR9 e AMPSA.	98
Tabela 9 - Deslocamento químico (δ) do RMN de ^1H e ^{13}C do monômero funcional AMPSA livre e da mistura entre BR9 e AMPSA.	98
Tabela 10 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 52 com as respectivas atribuições.....	101
Tabela 11 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 53 com as respectivas atribuições.....	102
Tabela 12 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 54 com as respectivas atribuições.....	103
Tabela 13 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 55 com as respectivas atribuições.....	104
Tabela 14 - Parâmetros obtidos pelo método BET para os MIP/NIP.....	106
Tabela 15 - Classificação dos poros segundo seu diâmetro.	106
Tabela 16 - Parâmetros de religação do corante BR9 às cavidades livres do MIP a partir da determinação da capacidade de religação (Q), coeficiente de partição (K_p) e fator de impressão (I).	111
Tabela 17 - Valores de recuperação relativa do corante BR9 em uma amostra de um efluente industrial têxtil a partir do uso de com diferentes cartuchos de SPE.	113

Tabela 18 - Parâmetros de religação do corante AG16 às cavidades livres do MIP a partir da determinação da capacidade de religação (Q), coeficiente de partição (K_p) e fator de impressão (I).....	150
Tabela 19 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 103 com as respectivas atribuições.....	152
Tabela 20 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 104 com as respectivas atribuições.....	153
Tabela 21 - Parâmetros obtidos pelo método BET para os MIP/NIP.....	154
Tabela 22 - Valores de recuperação relativa do corante AG16 em uma amostra de um efluente industrial têxtil a partir do uso de com diferentes cartuchos de SPE.....	157
Tabela 23 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 122 com as respectivas atribuições.....	169
Tabela 24 - Parâmetros obtidos pelo método BET para os MIP/NIP.....	170

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1VI: 1-vinilimidazol

ABDV: 2,2'-azo-*bis*-(2,4-dimetilvaleronitrila)

Abs: Absorbância

ACR: Acrilonitrila

AG16: Verde Ácido 16

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

AMPSA: Ácido 2-acrilamido-2-metilpropano sulfônico

APM: 4,4'-diaminodifenilmetano

AR1: Vermelho Ácido 1

AR114: Vermelho Ácido 114

BET: Brunauer, Emmett, Teller (Teoria de Adsorção Multimolecular)

B-R: Britton-Robinson

BR9: Vermelho Básico 9

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

COZY: *Correlation spectroscopy*

DAD: Arranjo de diodos

DMSO-d₆: Dimetilsulfóxido deuterado

DNA: ácido desoxirribonucleico

DOZY: *Diffusion ordered spectroscopy*

DV51: Violeta Direto 51

DY50: Amarelo Direto 50

EGDMA: Etileno-glicol-dimetacrilato

EM: Espectrometria de massas

FEG-SEM: Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução com fonte de elétrons por emissão de campo

FTIR: Infravermelho com transformada de Fourier

HMBC: *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HRP: *Horseradish peroxidase* (enzima peroxidase)

HSQC: *Heteronuclear Single Quantum Correlation*

IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry*

MAA: Ácido metacrílico

Mag-MIP: Polímero molecularmente impresso magnético

ME: Monômero estrutural
MeOH-d₄: Metanol deuterado
MF: Monômero funcional
MG: Verde de Metila
MIP: Polímero molecularmente impresso
MISPE: Extração em fase sólida com MIP
MM: Molécula molde
MPS: 3-metacriloxi-propil-trimetoxissilano
NIP: Polímero não-impresso
NOESY: *Nuclear overhauser effect spectroscopy*
PVA: Poli(vinilálcool)
RD: Reflectância difusa
RMN: Ressonância magnética nuclear
SERS: Espectroscopia Raman intensificada por superfície
SPE: Extração em fase sólida
TIC: Cromatograma de íon totais
UV-Vis: Ultravioleta-Visível
VTES: Viniltrimetoxissilano
XIC: Cromatograma de íon extraído
 δ : Deslocamento químico (no RMN)
 δ_{as} : Deformação angular assimétrica
 δ_s : Deformação angular simétrica no plano
 λ : Comprimento de onda
 ν : Deslocamento axial
 ν_{as} : Deslocamento axial assimétrico
 ν_s : Deslocamento axial simétrico
 ω : Deformação angular simétrica fora do plano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	31
1.1 Corantes têxteis	31
1.2 Detecção dos corantes	35
1.3 Sensores ópticos	36
1.4 Polímeros molecularmente impressos (MIP)	39
1.5 MIP para corantes	44
2 OBJETIVOS	48
3 MATERIAIS E MÉTODOS	49
3.1 Reagentes e soluções	49
3.2 Instrumentação	50
3.3 Simulação computacional	52
3.4 Síntese dos polímeros molecularmente impressos	53
3.4.1 Síntese do MIP para o corante BR9	54
3.4.1.1 Empregando a acrilonitrila como MF	55
3.4.1.2 Empregando o ácido metacrílico como MF	55
3.4.1.3 Empregando o AMPSA como MF	55
3.4.1.4 Empregando o 4,4'-diaminodifenilmetano (APM) como MM	56
3.4.2 Síntese do MIP para o corante AG16	56
3.4.3 Síntese do MIP para o corante MG	57
3.5 Avaliação do MIP sintetizado com acrilonitrila por meio da religação do corante BR9 em diferentes concentrações	57
3.6 Estudo de afinidade dos corantes BR9, AG16 e MG aos demais MIP sintetizados	58
3.7 Cálculo do pK_a dos corantes	59
3.8 Estudo de seletividade do MIP para os corantes BR9 e AG16	59
3.9 Aplicação dos MIP para os corantes BR9 e AG16 em amostra de efluente industrial têxtil	60
3.10 Imobilização de polímeros impressos sobre a superfície da fibra óptica	62
3.10.1 Modificação da fibra óptica de poliestireno	62
3.10.2 Modificação da fibra óptica bifurcada de vidro	63
3.10.2.1 Imobilização por oclusão	64

3.10.2.2 Imobilização por silanização	64
3.11 Análise da religação do corante BR9 aos polímeros imobilizados sobre a fibra óptica de poliestireno	65
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1 MIP para o corante BR9	66
4.1.1 Espectro de absorbância e curva analítica	66
4.1.2 Análise da degradação do corante BR9 por CLAE-EM.....	67
4.1.3 Simulação computacional.....	71
4.1.4 Remoção da molécula do corante BR9 da estrutura do MIP	72
4.1.5 Isotermas de adsorção do corante BR9 aos polímeros	74
4.1.6 Otimização da interação entre o corante BR9 e o MIP	75
4.1.7 Cálculo do pK_a do corante BR9.....	79
4.1.8 Isoterma de adsorção do corante BR9 aos polímeros com as condições otimizadas	80
4.1.9 Síntese do MIP para BR9 empregando MAA como MF.....	81
4.1.10 Avaliação do desempenho dos MIP sintetizados com o AMPSA como MF e BR9 como MM.....	82
4.1.10.1 Análise de ligação com o MIP 1:3:20 (BR9:AMPSA:EGDMA) pelo método bulk..	82
4.1.10.2 Análise de ligação com o MIP 1:3:200 (BR9:AMPSA:EGDMA) pelo método bulk	83
4.1.10.3 Análise de ligação com o MIP sintetizado pelo método de precipitação	85
4.1.10.4 Tempo de interação entre o corante BR9 e polímero 1:3:200 (BR9:AMPSA:EGDMA) pelo método bulk	86
4.1.10.5 Reprodutibilidade entre diferentes lotes do polímero 1:3:200 (BR9:AMPSA:EGDMA) pelo método bulk	87
4.1.11 Avaliação do desempenho do MIP para o corante BR9 sintetizado com o APM como MM e AMPSA como MF	88
4.1.12 Avaliação do desempenho do MIP empregando ACR como MF na proporção 1:3:200 (BR9:ACR:EGDMA)	89
4.1.13 Avaliação da interação entre BR9 e AMPSA por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	91
4.1.14 Caracterização dos polímeros por microscopia eletrônica de varredura	100
4.1.15 Caracterização dos polímeros por espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier.....	101
4.1.16 Análise da porosidade pelo método BET	105

4.1.17	Análise térmica dos polímeros	106
4.1.18	Análise de ligação do corante BR9 ao MIP empregando concentrações poliméricas mais elevadas.....	107
4.1.19	Isoterma de adsorção do corante BR9 ao MIP-AMPSA	108
4.1.20	Estudo de seletividade com o MIP para BR9	111
4.1.21	Aplicação em amostra de efluente industrial têxtil contaminado com BR9.....	112
4.1.22	Imobilização do MIP sobre a fibra óptica de poliestireno por oclusão	114
4.1.23	Estudos preliminares do equipamento óptico	117
4.1.24	Imobilização do MIP sobre a fibra óptica bifurcada por oclusão utilizando PVA.....	120
4.1.25	Imobilização do MIP sobre a fibra óptica bifurcada por silanização	123
4.1.25.1	Utilizando o VTES como agente silanizante	123
4.1.25.2	Imobilização por silanização utilizando MPS	125
4.2	MIP para o corante verde ácido 16 (AG16)	127
4.2.1	Espectro de absorbância e curva analítica	128
4.2.2	Análise da degradação do corante AG16 por CLAE-EM	128
4.2.3	Simulação computacional.....	132
4.2.4	Avaliação da interação entre AG16 e 1VI por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	133
4.2.5	Estudo de ligação do corante AG16 aos dois polímeros sintetizados	140
4.2.6	Isoterma de adsorção do corante AG16 aos dois polímeros sintetizados.....	141
4.2.7	Estudo de ligação do corante AG16 ao MIP em diferentes valores de pH	142
4.2.8	Cálculo do pK_a do corante AG16	143
4.2.9	Isoterma de adsorção com ajuste de pH do MIP para AG16.....	145
4.2.10	Avaliação do tempo de interação entre o corante AG16 e o MIP	146
4.2.11	Isoterma de adsorção com tempo de interação de 720 min.....	147
4.2.12	Estudo de ligação do MIP para AG16	147
4.2.13	Estudo do tempo de interação entre AG16 e os polímeros.....	148
4.2.14	Isoterma de adsorção corante AG16 aos polímeros	149
4.2.15	Caracterização dos polímeros por microscopia eletrônica de varredura	151
4.2.16	Caracterização do MIP por espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier	151
4.2.17	Análise da porosidade pelo método BET	154
4.2.18	Análise térmica dos polímeros	155
4.2.19	Estudo de seletividade do MIP para AG16	155

4.2.20 Aplicação em amostra de efluente contaminada com AG16.....	156
4.3 MIP para o corante verde de metila (MG).....	157
4.3.1 Espectro de absorbância e curva analítica	158
4.2.2 Análise da degradação do corante MG por CLAE-EM.....	158
4.3.3 Simulação computacional.....	162
4.3.4 Avaliação da interação entre MG e monômeros funcionais por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	163
4.3.5 Caracterização dos polímeros por microscopia eletrônica de varredura	168
4.3.6 Caracterização do MIP por espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier	168
4.3.7 Análise da porosidade pelo método BET	170
4.3.8 Análise térmica dos polímeros	171
4.3.9 Estudo de ligação do corante MG aos polímeros	171
4.3.10 Avaliação do tempo de interação entre o corante MG e o MIP	172
4.2.11 Isoterma de adsorção do corante MG aos polímeros.....	173
5 CONCLUSÕES.....	175
6 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	176
REFERÊNCIAS	177

1 INTRODUÇÃO

1.1 Corantes têxteis

O interesse que a cor provoca ao ser humano é tão intenso, que não é possível imaginar indústrias como têxteis, alimentícias e de cosméticos sem a utilização de corantes. A busca em colorir objetos e tecidos vêm desde a antiguidade, sendo atribuída aos fenícios a prática do tingimento no ano 2000 a.C. (1).

No entanto, até meados do século XIX, somente corantes naturais eram disponíveis, provenientes de vegetais, insetos, moluscos e minerais, cujas fórmulas de extração e aplicação eram guardadas secretamente. Entretanto, o britânico William H. Perkin descobriu o primeiro corante sintético (Malva) derivado do coque em 1856. A descoberta deste corante sintético, cuja coloração púrpura se ligava mais efetivamente à seda que os demais corantes naturais, deu origem a primeira indústria de corante têxtil. Posteriormente, desencadeou a produção de corantes orgânicos sintéticos em grande escala, principalmente a partir de 1897, quando a BASF passou a produzir corantes sintéticos derivados do alcatrão de hulha (2).

A partir da descoberta dos corantes sintéticos e com o aumento da influência da cor no dia-a-dia das pessoas, houve um maior interesse por produtos coloridos, acarretando no rápido crescimento da produção de corantes artificiais. Desde então, os corantes sintéticos são cada vez mais utilizados, especialmente por apresentarem maior uniformidade, estabilidade e poder tintorial em relação às substâncias naturais, consequentemente, incentivando novas descobertas (3). Atualmente, existem mais de 34.500 corantes e pigmentos catalogados, que são produzidos em larga escala e utilizados para os mais diversos fins (4).

Os corantes sintéticos são amplamente empregados para tingimento de tecidos, papéis, celulose, plásticos, fotografias coloridas, alimentos, cosméticos e outros produtos industrializados. Sendo a produção estimada de 7×10^5 a 1×10^6 toneladas anuais em todo o mundo (5). Consequentemente, a indústria de produção, manufatura e aplicação de corantes é de extrema importância para a economia nacional, envolvendo ao redor de 30 mil empresas, com faturamento de US\$ 22 bilhões e empregando diretamente 1,45 milhões de pessoas (6).

Dentro da infinidade de corantes empregados no setor industrial, existe uma gama de diferentes tipos, que pode ser classificado de acordo com sua aplicação ou estrutura química.

A classificação pela estrutura química está relacionada ao grupo cromóforo presente em sua estrutura, que possui absorção na região ultravioleta e visível devido às transições eletrônicas de um sistema conjugado de duplas ligações, sendo desta forma o grupo

responsável pela cor dos corantes. Ligado ao cromóforo encontram-se os auxocromos, grupos saturados que alteram o comprimento de onda e a intensidade de absorção da molécula (7,8).

Os grupos cromóforos mais encontrados nos corantes são azo ($-N=N-$), carbonila ($-C=O$), metino ($-CH=$), nitro ($-NO_2$), antraquinona, trifenilmetano, heterocíclicos e corantes poliméricos. Já os auxocromos mais importantes são amina, carboxila, sulfonato e hidroxila. A classificação dos corantes devido a sua aplicação está relacionada com os auxocromos, que são os grupos que farão a ligação ao substrato. As classes dos corantes pela sua aplicação podem ser classificadas como: reativos, ácidos, diretos, básico, dispersos, aniônicos, dentre outros (2,7).

Dentre estes corantes, a classe dos trifenilmetanos é largamente utilizada na indústria de tecidos para a pigmentação de nylon, lã, algodão e seda, assim como para a coloração de óleo, gorduras, ceras, vernizes e plásticos. Esse cromóforo consiste em três radicais arilas ligados a um átomo de carbono central. Grupos auxocromos, como aminos e sulfônicos, conferem estabilidade e solubilidade à molécula (9).

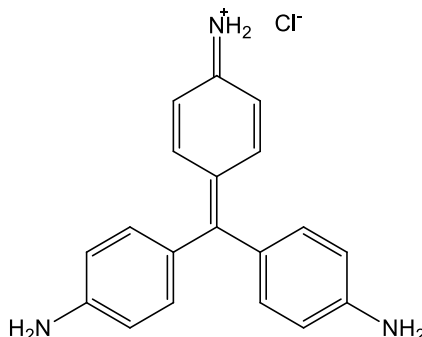
Essa classe de corante, apesar de amplamente utilizada, é um dos poluentes orgânicos mais comuns e representa um grupo que causa preocupação ambiental devido a sua contaminação e potencial toxicidade para animais e humanos (10,11). Nos efluentes, estes produtos apresentam problemas ambientais, pois absorvem a luz e interferem nos processos biológicos aquáticos (12).

Um corante têxtil conhecido por sua potencial toxicidade é o Vermelho Básico 9 monoclórídrico (*Basic Red 9* – BR9), também conhecido como *Basic Fuchsin* e *Pararosaniline Chloride* (C.I. 42500), cuja estrutura química é apresentada na Figura 1. Este corante é um pó cristalino de coloração verde escura a temperatura ambiente. É levemente solúvel em água e éter, mas solúvel em etanol e metanol. É estável sob condições normais de temperatura e pressão, mas pode se decompor quando aquecido. Nos processos de tingimento, este corante é empregado para a obtenção da cor magenta (13).

Existem indícios de que este composto apresente atividade carcinogênica em humanos, com base em estudos que evidenciam a carcinogenicidade em animais. A exposição a este corante por duas diferentes rotas de exposição causou tumor em duas espécies de roedores, atingindo vários tecidos. A administração via oral causou câncer de fígado em camundongos de ambos os sexos e em ratos machos. Em ratos de ambos os sexos, houve incidência de câncer na glândula de Zymbal, tumor benigno e maligno na glândula tireoide, e tumor benigno de pele. Outros tumores possivelmente resultantes da exposição oral foram tumores na glândula mamária em ratos do sexo feminino e tumor no sistema hematopoiético

em camundongos fêmeas. A injeção subcutânea do BR9 monocloridrato causou câncer no local da injeção em ratos de sexo não especificado (13,14).

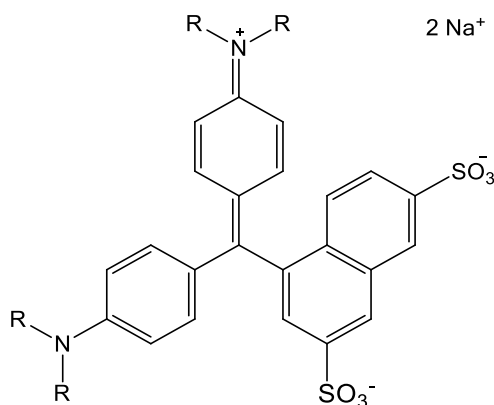
Figura 1 - Estrutura do corante Vermelho Básico 9 (BR9).



Fonte: estrutura baseada no site da empresa Sigma-Aldrich®.

O corante verde ácido 16 (*acid green 16* - A16; C.I. 44025) é outro bastante empregado na indústria têxtil e pertencente ao grupo dos trifenilmetanos, cuja estrutura é representada na Figura 2.

Figura 2 - Estrutura do corante Verde Ácido 16 (AG16).



R = Me ou Et

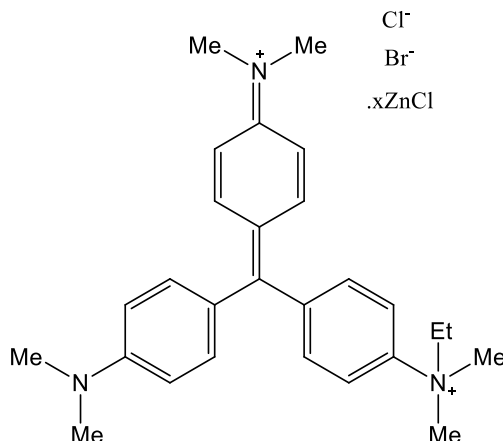
Fonte: estrutura baseada no site da empresa Sigma-Aldrich®.

Este corante apresenta-se na forma de um pó verde escuro, quando solubilizado em água produz uma solução azul esverdeada, e em etanol uma solução com coloração verde. Na indústria têxtil é utilizado principalmente para o tingimento de lã e seda (15). Assim como o corante BR9, estudos toxicológicos mostraram indícios de que o corante AG16 apresenta efeitos genotóxico e mutagênico em ratos (16).

Outro corante desta mesma classe que pode também ser destacado pela sua toxicidade (11) é o Verde de Metila (*Methyl Green* – MG; C.I. 42590), cuja estrutura é mostrada na

Figura 3. O Verde de Metila é um corante básico dicatiônico solúvel em água, geralmente empregado para o tingimento de seda, lã e algodão (17).

Figura 3 - Estrutura do corante Verde de Metila (MG).



Fonte: estrutura baseada no site da empresa Sigma-Aldrich®.

Apesar do grande interesse e aplicação dos corantes pelas indústrias têxteis, um grave problema que elas enfrentam é o descarte dos efluentes contendo corantes, pois durante o processo de tingimento são perdidos aproximadamente 50% dos corantes e cerca de 10 a 15% deles são descartados nos efluentes (18), provocando uma degradação ambiental considerável, modificando a coloração natural e formando espumas na sua superfície quando esses efluentes têxteis são lançados no corpo receptor (19).

O processo de tratamento de efluentes utilizado pela indústria têxtil baseia-se em técnicas de tratamento fundamentadas em processos de coagulação, seguidos de separação por flotação ou sedimentação, que apresentam uma elevada eficiência na remoção de material particulado. No entanto, a remoção de cor e compostos orgânicos dissolvidos mostra-se deficiente. Os processos de adsorção em carvão ativado apresentam uma eficiência significativamente maior, contudo em função da superfície química do carvão ser positiva, a adsorção de corantes de caráter catiônico é uma limitação bastante importante. Em geral, na indústria têxtil os processos de tratamento estão fundamentados na operação de sistemas físico-químicos de precipitação-coagulação, seguidos de tratamento biológico via sistemas de lodo ativado, que consiste na agitação dos efluentes na presença de micro-organismos e ar, durante o tempo necessário para metabolizar e flocular uma grande parte da matéria orgânica. O sistema apresenta uma eficiência relativamente alta, permitindo a remoção de aproximadamente 80% da carga de corantes (20,21).

Mesmo após o tratamento, uma parcela de corantes é despejada em corpos d'água. No entanto, a maioria deles são moléculas tóxicas, apresentando riscos à saúde, devido, por

exemplo, à neoplasia de tecidos (22). A toxicidade destes compostos baseia-se em sua reatividade com espécies oxigenadas ou excitação durante terapias fotodinâmicas. Assim, seu potencial carcinogênico encontra-se correlacionado a sua oxidação por meio de sistemas específicos, ou pela ação da enzima peroxidase, produzida pela tireóide, gerando aminas primárias e aromáticas (23).

Levando em consideração o alto risco que o descarte dos corantes em corpos d'água, sistemas aquíferos e mananciais de abastecimentos, várias iniciativas vêm sendo desenvolvidas a fim de identificar, quantificar e degradar este tipo de poluente.

1.2 Detecção dos corantes

Existem diversas maneiras relatadas na literatura para detectar e quantificar corantes, sendo que as principais são técnicas de separação como cromatografia e eletroforese, além de eletroquímicas e ópticas.

Técnicas de separação são as mais empregadas para a determinação de corantes nas mais diferentes matrizes, tendo como destaque a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) usando diferentes detectores: UV-Vis, arranjo de diodos (DAD) e espectrometria de massas (EM).

Já em 1983, Abidi (24) relatou estudos empregando a CLAE para a separação e detecção de corantes do grupo trifenilmetano. Enquanto Huang *et al.* (25) propuseram o uso de um cromatógrafo líquido acoplado a um espectrômetro de massas para a separação e detecção de diversos corantes, dentre eles o BR9, que são indistinguíveis pelo método da espectrofotometria UV/Vis. Feng *et al.* (26) desenvolveram um método empregando CLAE-EM capaz de determinar simultaneamente 40 corantes presentes em bebidas não alcoólicas. Román *et al.* (27) reportaram o estudo de três diferentes corantes (Vermelho Básico 9, Laranja Ácido 7 E Amarelo Alimentício 3) utilizando a eletroforese capilar e a espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS) para a separação e subsequente identificação espectroscópica dos analitos carregados.

A determinação eletroquímica dos corantes também merece destaque, uma vez que diversas técnicas são empregadas, entre elas amperometria (28), voltametria de onda quadrada (29), pulso diferencial (30) e espectrometria de impedância eletroquímica (31).

Além de diversas técnicas eletroanalíticas, diferentes eletrodos e modificações são empregados. Liu *et al.* (32) desenvolveram um sensor utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificada com triton X-100/nanotubos de carbono multicamadas funcionalizados

com grupos COOH/nanomateriais de Fe₂O₃ para a determinação dos corantes Laranja G e Laranja II em amostras de águas residuais industrial.

Xiao *et al.* (33) reportaram um imunossensor impedimétrico para detecção do corante azo Sudan I em amostras alimentícias imobilizando anticorpos monoclonais anti-Sudan I sobre a superfície de eletrodos de ouro.

Técnicas ópticas também são empregadas na análise de corantes em diferentes amostras. No entanto, a espectrofotometria no UV-Vis possui algumas limitações ao ser utilizada, pois não é possível detectar um corante específico em uma amostra complexa ou na presença de outros corantes. Contudo, com algumas adaptações, essa técnica pode ser utilizada com bastante seletividade. Um exemplo é o ensaio ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), que consiste na interação do corante com anticorpos e a imunorreação monitorada por meio da absorbância do produto da reação do substrato com a enzima ligada ao anticorpo (34). Dong *et al.* (35) descreveram a detecção do corante Ponceau 4R por meio do ensaio ELISA em amostras de alimentos.

Apesar de haver ampla possibilidade de técnicas para a determinação de corantes, algumas delas apresentam limitações e problemas relacionados à preparação das amostras, consumindo maior tempo de análise, alto custo e uso de grande quantidade de solventes (36).

Por essa razão, uma alternativa que pode mostrar-se interessante e promissora para a detecção e quantificação de corantes e que ainda não foi explorada é o desenvolvimento de metodologias empregando optodos (ou optrodos), isto é, sensores ópticos baseados em fibras ópticas. O emprego de sensores ópticos na análise de corantes torna-se atraente devido à propriedade química que os corantes apresentam de absorver luz na região do espectro do visível, possibilitando o monitoramento por espectrofotometria. Adicionalmente, o elemento reconhecedor dos optodos atribuirá maior seletividade ao sensor, possibilitando a detecção de um determinado corante, ou uma classe dele, em uma amostra mais complexa.

1.3 Sensores ópticos

Antes de abordar especificamente conceito, funcionamento e propriedades dos sensores ópticos, é importante definir o que é um sensor de uma maneira mais abrangente.

De acordo com a IUPAC, um sensor químico é um dispositivo que transforma uma informação química, que é dependente da concentração de um componente específico (analito), num sinal analítico mensurável. Sendo que essa informação química pode ser originada de uma reação química do analito ou de uma propriedade física do sistema investigado (37).

Os sensores podem ser divididos em duas grandes classes: (a) sensores físicos, que fornece informações sobre uma propriedade física do sistema, como para medições de distância, massa, radiação, temperatura, pressão, etc.; e (b) sensores químicos, que detectam e quantificam substâncias empregando um elemento receptor químico. Sensores químicos são capazes de responder a determinados compostos (analitos) seletivamente através de interações químicas na interface sensor-amostra, sendo aplicados na detecção e na quantificação de analitos que podem, ou não, ser de origem biológica (38).

Os sensores químicos apresentam um elemento receptor acoplado a um transdutor, que é o componente-chave de qualquer sensor, pois permite que o sensor seja seletivo a um determinado analito ou a um grupo de analitos em particular, buscando evitar interferências de outras substâncias. Os transdutores são dispositivos capazes de transformar a informação química sobre a amostra em um sinal analítico mensurável. Entretanto, o transdutor propriamente dito, não possui a propriedade de seletividade (37).

Dentre os diversos tipos de sensores químicos, encontram-se os sensores ópticos, que fornecem uma resposta óptica em função da concentração de analito numa amostra. Podendo ser classificados em função da propriedade óptica que tenha sido medida: absorbância, reflectância, fluorescência, fosforescência, luminescência, espalhamento Raman, evanescência, índice de refração, etc (37).

Uma propriedade óptica interessante no emprego dos sensores químicos é a onda evanescente. Uma luz transportada no interior de um guia de onda óptico sofre reflectância interna total quando entra em contato com a interface da fibra e o meio externo que apresenta um menos índice de refração. Para a reflectância interna total, os coeficientes de transmissão de Fresnel para a onda elétrica transversal e a onda magnética transversal são diferentes de zero. Isto significa que, embora a energia de luz seja totalmente refletida, um campo eletromagnético se prolonga para o exterior a partir da interface para o meio com menor índice de refração. Este campo, denominado de onda evanescente, decai exponencialmente com a distância a partir da superfície, geralmente ao longo da distância de 100 nm a aproximadamente um comprimento de onda (39,40). Essa propriedade possibilita o monitoramento do sinal óptico quando a fase sensora encontra-se na superfície de uma fibra óptica e sofre variação da onda evanescente quando o analito entra em contato com o sensor.

Quando as fibras ópticas são adicionadas a estes sensores é possível a utilização das fibras para melhorar a transmissão da luz para a obtenção de um optrodo ou optrodo (41).

As fibras ópticas têm se tornado uma parte importante da tecnologia de sensores, pois é uma poderosa ferramenta de detecção com aplicação em campos diversos como na

medicina, microbiologia, análises clínicas e farmacêuticas, indústrias de diferentes segmentos e monitoramento ambiental (42,43).

O princípio de funcionamento dos optodos consiste na introdução de um feixe de radiação, proveniente de uma fonte apropriada, no interior de uma fibra óptica. Em seguida, esse feixe é guiado para interagir com a fase sensora. Esta interação resulta numa modificação do sinal óptico, que está relacionada com a informação química desejada; o sinal volta pela mesma ou por outra fibra e é guiado até um detector de luz para ser monitorado (44).

Uma vez que a fase sensora do optodo é a responsável pela interação com o analito e a seletividade do sistema é importante que sua imobilização sobre a fibra óptica seja eficiente.

Existem algumas diferentes formas de realizar essa imobilização, podendo-se destacar a adsorção, interação eletrostática, oclusão e ligação covalente.

Os dois primeiros métodos de imobilização são bastante simples, sendo que a adsorção apresenta fácil preparo, no entanto fraca interação entre a fase sensora e a fibra óptica. Dessa forma, elemento de reconhecimento químico pode ser facilmente lixiviado da superfície do substrato. Na interação eletrostática, o reagente seletivo ao analito é depositado na superfície da fibra pela formação de pares iônicos.

Pelo método de oclusão, o elemento reconhecedor permanece dentro de um espaço intersticial da estrutura de um gel ou filme polimérico (44).

A ligação covalente da fase sensora à fibra óptica é normalmente realizada por silanização utilizando moléculas, denominadas agentes silanizantes, que possuem dois diferentes centros reativos, um silício-funcional e outro organo-funcional. O primeiro com afinidade pelo vidro e o outro pelo composto orgânico que se deseja imobilizar. Esse método de imobilização apresenta maior estabilidade e maior tempo de vida ao sensor (45).

Uma imobilização adequada do elemento reconhecedor à fibra óptica irá melhorar a resposta analítica do optodo. Ampliando, desta maneira, os benefícios em se empregar um sensor químico baseado em sinais ópticos.

Os sensores químicos baseados em fibras ópticas apresentam algumas vantagens, tais como fabricação simples, boa seletividade e sensibilidade, possibilidade de análise remota e em tempo real, dispensa dispositivo de referência e são de baixo custo, permitindo o desenvolvimento de fases sensoras “descartáveis” e de fácil substituição (44-48).

As aplicações da fibra óptica com sensores permeiam áreas diversas de grande importância para a química analítica, tais como análise ambiental, alimentícia, clínica e processos químicos (49).

Um imunossensor quimioluminescente a base de fibra óptica para a detecção de anticorpos de câncer de mama e ovário foi desenvolvido por Salama *et al.* (50) Para isso a proteína GIPC-1 foi imobilizada sobre a superfície sensora para atuar como proteína alvo do IgM monoclonal humano 27.B1 isolado de uma paciente com câncer de mama. O imunossensor foi aplicado em amostras de soro de pacientes com câncer de ovário e de mama, e apresentou resultados superiores ao método padrão ELISA para as duas enfermidades.

A fibra óptica também foi empregada por Niu *et al.* (51) para o desenvolvimento de um biossensor enzimático para DNA com detecção por fluorescência. O complexo de hibridização formado entre a sonda de DNA e o alvo biotinilado foi imobilizado na fibra óptica e, então, ligado com a estreptavidina marcada com a enzima HRP. O DNA foi quantificado através da detecção fluorescente do ácido *bi-p-p'*-4-hidroxifenilacético gerado pelo substrato ácido 4-hidroxifenilacético, catalisado pelo HRP.

Um optodo altamente sensível e seletivo para determinação do íon zinco foi desenvolvido por Aziz *et al.* (52). A resposta do sensor é baseada no monitoramento da fluorescência devido à ligação do íon Zn^{2+} ao ionóforo sintetizado. O sensor apresentou ampla faixa linear (de $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) e limite de detecção de $6,3 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹. Além disso, o optodo proposto apresentou boa seletividade quando comparado com outros íons metálicos e os resultados foram satisfatórios quando aplicado em amostras alimentícias e biológicas.

Um sensor químico a base de fibra óptica para determinação de cocaína bastante interessante foi proposto por Nguyen *et al.* (53). Para isso, um polímero molecularmente impresso (MIP), sintetizado empregando o próprio analito como molécula molde, foi imobilizado sobre a fibra óptica pela silanização de um monômero fluorescente. O monitoramento ocorreu pelo aumento da fluorescência do sistema quando a cocaína se religa ao MIP. O optodo apresentou intervalo linear na concentração de 0 a 500 µmol L⁻¹, boa reprodutibilidade e seletividade sobre outros fármacos.

MIP são polímeros que mimetizam o sistema antígeno-anticorpo, porém apresentam a vantagem de apresentar maior estabilidade que os materiais biológicos em meios adversos. A imobilização desse polímero à superfície de fibras ópticas para o desenvolvimento de sensores ópticos biomiméticos para corantes mostra-se viável, promissora e inovadora.

1.4 Polímeros molecularmente impressos (MIP)

A impressão molecular é reconhecida como um dos métodos mais rápidos e poderosos para a criação de receptores sintéticos, pois apresenta forte afinidade para uma seleção

diversificada de analitos, e ainda assim mostra-se bastante seletiva. Sendo reportada pela primeira vez por Polyakov em 1932 (54). Atualmente, a impressão de pequenos compostos orgânicos, íons metálicos e de peptídeos já está bem estabelecida e a impressão de analitos muito maiores, como proteínas e células, também já foi relatada (55,56).

Uma das principais técnicas para a impressão molecular é a partir de polímeros moleculamente impressos, conhecidos como MIP (“*Molecularly Imprinted Polymers*”), que são polímeros que realizam o reconhecimento específico por formarem cavidades que são complementares em tamanho e forma ao analito (57). Em 1972, houve os primeiros relatos sobre MIP, quando Wulff (58) e Takagish (59) publicaram a preparação de polímeros orgânicos com ligantes seletivos predefinidos. Nestes trabalhos, moléculas moldes, ou derivados delas, foram adicionadas durante a polimerização e puderam ser reconhecidas posteriormente pelos polímeros impressos.

Desde então, os MIP têm atraído considerável atenção na última década, pois aparecem como uma ferramenta promissora para o desenvolvimento de sistemas com reconhecimento biomimético semelhante aos sistemas específicos enzima-substrato e/ou antígeno-anticorpo (60).

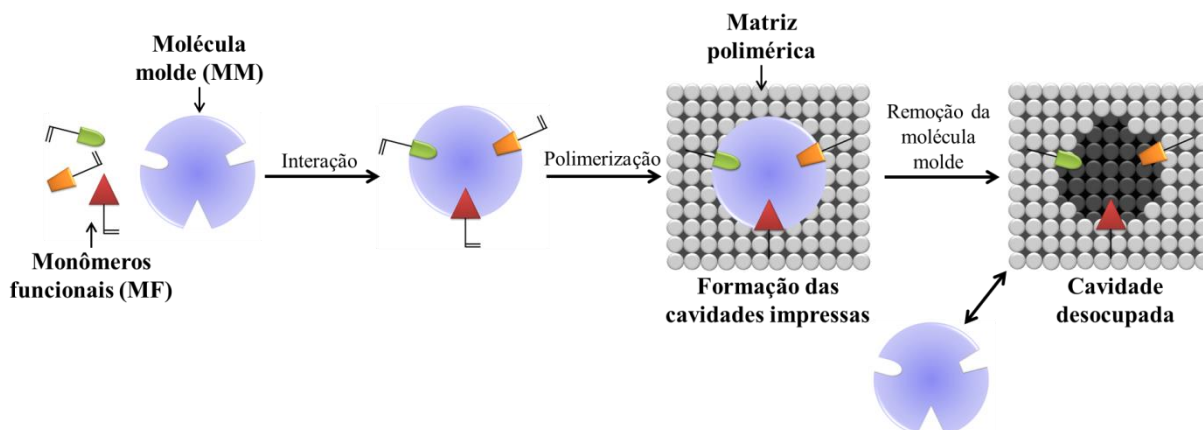
Esses polímeros são produzidos pelo crescimento em torno de uma molécula alvo que é utilizada como molde, de tal forma que um esqueleto polimérico é formado ao redor desta molécula ou de um composto com estrutura análoga. Atualmente, a polimerização por radicais livres (ou crescimento em cadeia) constitui o método de síntese mais importante para a conversão de monômeros em polímeros, de uma maneira geral a reação é iniciada pela adição de calor ou pela exposição à radiação UV (61).

Uma vez que o polímero foi formado, a molécula empregada como molde é removida da estrutura polimérica por dissolução, por meio de lavagem com um solvente orgânico. Desta forma, as cavidades do MIP são reveladas e apresentam-se complementares em forma e tamanho ao analito de interesse. Posteriormente, o solvente utilizado para a remoção da molécula molde é removido por meio de evaporação e os MIP estão prontos para a religação da molécula alvo às cavidades específicas do polímero impresso, possibilitando a sua quantificação (62). A Figura 4 esquematiza a síntese do MIP e remoção da molécula molde.

Os MIP são preparados normalmente pelo método *in bulk*, considerado o mais simples porque é um sistema de preparo homogêneo. Após a polimerização, o material resultante formado é um sólido quebradiço com partículas de tamanhos diferentes. A fim de produzir partículas com tamanhos uniformes, surgiram novas concepções para o preparo dos MIP,

empregando sistemas heterogêneos, incluindo a polimerização por suspensão e por precipitação (57).

Figura 4 - Esquema da síntese de polímeros molecularmente impressos (MIP).



Fonte: adaptada de HAUPT (63).

Para a síntese do MIP, são empregados basicamente cinco compostos: molécula molde, monômero funcional, monômero estrutural, iniciador radicalar e solvente, os quais devem ser avaliados atenciosamente quanto à natureza e concentração de cada um desses reagentes.

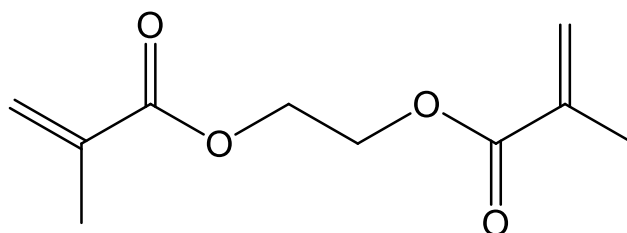
A molécula molde (MM) é um componente que possui grande importância na síntese de MIP, pois é a responsável pela definição da organização espacial dos grupos de interação dos monômeros funcionais (MF). Algumas moléculas, devido a vários fatores, não são favoráveis para realização de impressão molecular por radicais livres, pois não são quimicamente inertes ou são susceptíveis a participar das reações radiculares. É importante também que a molécula seja estável a temperaturas superiores a 60 °C ou à radiação UV (64). Após a definição da molécula molde, a próxima etapa consiste na seleção do monômero funcional que apresente uma melhor afinidade com ela.

Os MF são responsáveis pelas interações que se estabelecem nos locais de reconhecimento molecular. Nos protocolos de moldagem molecular não-covalente, normalmente é empregado um excesso de monômeros funcionais em relação à quantidade de MM, de modo a favorecer a associação entre o analito e o MF. É muito importante assegurar a complementaridade entre a funcionalidade da molécula-molde e do monômero funcional (por exemplo, um doador de prótons com um aceitador de prótons), de modo a maximizar a formação dos complexos e, portanto, o processo de moldagem molecular do polímero. Atualmente, encontram-se disponíveis comercialmente vários monômeros funcionais com estruturas e polaridades diversas e muitos outros podem ser obtidos com base em processos de

síntese racional (61,65). É importante ressaltar que a interação da molécula molde ao monômero funcional pode ocorrer por meio de ligação covalente ou não covalente. No entanto, a técnica de impressão mais comum é a não covalente; uma vez que apresenta mais vantagens em relação às outras, como fácil preparação do complexo monômero/analito, fácil remoção do analito do polímero e aplicação em grande número de diferentes tipos de moléculas alvo (66).

Os monômeros estruturais (ME), também denominados como agente de ligação cruzada ou reticulação, desempenham três funções principais: controlar a morfologia da matriz polimérica, estabilizar os locais de ligação com capacidade de reconhecimento molecular e conferir estabilidade mecânica à matriz polimérica. Estes compostos devem possuir grupos que interajam de maneira estável ao monômero funcional para a formação da estrutura do polímero. O etileno-glicol-dimetacrilato (EGDMA), cuja estrutura é apresentada na Figura 5, tem sido o monômero estrutural mais utilizado, por promover a formação de polímeros térmica e mecanicamente estáveis e com rápida transferência de massa (64,67).

Figura 5 - Estrutura do etileno-glicol-dimetacrilato (EGDMA).



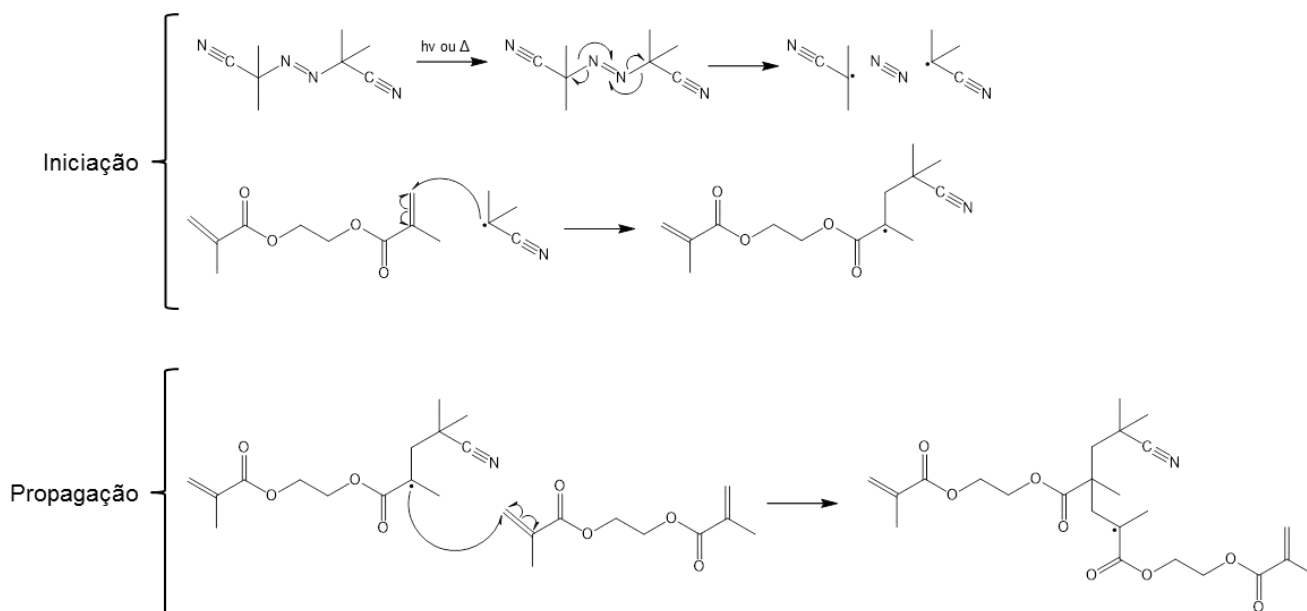
Fonte: estrutura baseada no site da empresa Sigma-Aldrich®.

O solvente na síntese do MIP deve ser escolhido com cuidado, de acordo com os componentes da síntese do polímero, pois, além de solubilizar todos os reagentes, o solvente não deve interferir na formação do complexo entre a molécula molde e o monômero funcional (64). A escolha do solvente, juntamente com as demais moléculas da síntese, determinará a porosidade dos polímeros. Estudos apontam que solventes porogênicos com características apolares e com baixa constante dielétrica são os mais indicados para síntese devido a sua capacidade para estabilizar ligações de hidrogênio. No entanto, vários compostos não são solúveis em meios apolares e, conseqüentemente, estes MIP terão de ser polimerizados em meios polares, como o metanol ou água (57).

A função do iniciador radicalar é liberar radicais livres para possibilitar o início e a manutenção da reação de polimerização. Para a reação ser iniciada a molécula deve sofrer uma quebra em sua estrutura, para isso é necessário algum estímulo físico, como o aumento da temperatura ou a incidência de radiação UV. Dentre os iniciadores mais utilizados estão o

2,2'-azo-*bis*-(2-metilpropionitrila) (AIBN) e o 2,2'-azo-*bis*(2,4-dimetilvaleronitrila) (ABDV) (68,69). O mecanismo de polimerização radicalar o monômero estrutural EGDMA usando AIBN como iniciador é demonstrado na Figura 6.

Figura 6 - Mecanismo de polimerização radicalar do EGDMA empregando AIBN com iniciador.



Fonte: adaptado de SELLERGRÉN e HALL (p. 23, 2003) (70).

Outro aspecto importante que se deve levar consideração na síntese de MIP é garantir a ausência de oxigênio no meio reacional, pois este gás inibe a polimerização por radicais livres. Assim, de maneira a maximizar a taxa de propagação dos monômeros e para assegurar a boa reprodutibilidade das polimerizações, é necessária a remoção total do oxigênio dissolvido da solução de monômeros imediatamente antes da polimerização. Para isso, deve-se borbulhar um gás inerte (normalmente nitrogênio ou argônio) na solução (65).

O interesse na síntese e estudo dos MIP vem aumentando significativamente devido as suas vantagens, tais como a capacidade de reconhecimento pré-determinado, potencial aplicação para uma ampla variedade de moléculas-alvo, relativa facilidade de preparação, baixo custo frente a alguns materiais biológicos, possibilidade de síntese em situações onde nenhuma biomolécula (receptor ou enzima) se encontra disponível ou quando elas possuem um alto custo, e resistência a ambientes adversos, nos quais biomoléculas naturais não resistiriam, como na presença de ácidos, bases, íons metálicos, solventes orgânicos, altas temperaturas e alta pressão (71,72).

Diante de tantas vantagens e com a possibilidade de empregar os MIP como elemento reconhecedor para o desenvolvimento de optodos, a síntese de polímeros impressos para

corantes têxteis torna-se atrativa, principalmente por ser uma área com ampla possibilidade de expansão, uma vez que não existem muitos relatos de MIP para corantes.

1.5 MIP para corantes

Apesar dos polímeros molecularmente impressos serem reportados desde a década de 70 (73), os relatos de MIP para corantes são relativamente novos na literatura, sendo as primeiras publicações decorrentes de 2005. Os MIP reportados são amplamente empregados como uma alternativa promissora para os sorventes convencionais empregados na extração de fase sólida (SPE) devido à seletividade na extração em amostras complexas, sendo comumente chamados de MISPE (74).

O primeiro MIP para corante foi desenvolvido por Puoci *et al.* (75), que realizaram a síntese de um MISPE para o corante Sudan I. O objetivo do trabalho foi concentrar este composto no MISPE a fim de realizar sua determinação subsequente por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A análise de matrizes alimentares sugeriu que a purificação pelo MISPE foi considerada uma solução viável para a preparação de amostras em análise de rotina quando a quantidade de Sudan I estiver no nível de traços.

Em 2007, Yan *et al.* (76) e Su *et al.* (77) sintetizaram de maneira muito semelhante um MIP para o corante Verde de Malaquita. Ambos os trabalhos mostraram que o MIP apresentou boa seletividade e especificidade para o corante de interesse, podendo ser utilizado para separar o composto de interesse em frutos do mar, água e outras matrizes. Li *et al.* (78), em 2008, também desenvolveram um MIP para esse mesmo corante, no entanto explorando a seletividade do polímero a grupos de corantes com estruturas semelhantes, como o Verde Leucomalaquita e Violeta de Genciana. Os resultados foram interessantes, uma vez que o MIP foi seletivo para um grupo de corantes com estrutura similar.

Já no ano de 2009 houve um aumento no número de publicações de MIP para corantes. Long *et al.* (79) seguiram com o estudo da seletividade do MISPE para o corante Verde de Malaquita. Um método para a determinação de diferentes tipos do corante Sudan utilizando MISPE foi reportado por Baggiani *et al.* (80) (2009), que mostrou que o polímero impresso foi seletivo somente para o grupo de corantes Sudan I. MISPE para o corante têxtil Vermelho Cibacron Reativos foi desenvolvido por Al-Degs, Abu-Surrah e Ibrahim (81) e obteve-se uma extração eficiente deste composto, mesmo na presença de interferentes com natureza química semelhante. Já Kyzas, Bikiaris e Lazaridis (82) publicaram a síntese de dois MIP para corantes de diferentes classes, o Vermelho Reativo e o Vermelho Básico, que apresentaram elevada afinidade com as respectivas moléculas alvo.

Um MISPE para o corante Tartrazina foi sintetizado por Luo *et al.* (83) empregando o brometo de 1-(α -metilacrilato)-3-metilimidazol como monômero funcional, que apresenta interações hidrofóbicas π - π , eletrostática e ligações de hidrogênio com a molécula molde. As medidas de recuperação do corante nas amostras foram mais eficientes e seletivas para o MIP proposto frente às colunas SPE comerciais analisadas.

Um MIP similar ao descrito anteriormente para corantes ácidos, empregando a Tartrazina como molécula molde, foi reportado pelos mesmos autores (84). No entanto, com a adição de nanopartículas magnéticas (Mag-MIP) no processo da síntese do polímero. A vantagem da utilização das partículas magnéticas no núcleo do MIP é que o processo de separação mostra-se mais simples e rápido, uma vez que podem ser facilmente recolhidas da amostra por um campo magnético externo, sem a utilização de centrifugação ou filtração adicional.

MIP para a extração de fase sólida do corante Sudan foram publicados amplamente no ano de 2012, porém de diferentes maneiras: realizando a síntese do MIP com uma molécula molde como *pseudo-template*, isto é, compostos com estrutura química semelhante a do analito de interesse (85). Também foram adicionadas nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 encapsuladas com SiO_2 funcionalizada para a formação de Mag-MIP (86). E recobrindo uma fibra de microextração de fase sólida com MIP a fim de auxiliar na eluição eficiente da molécula molde e na cinética rápida de adsorção/dessorção do analito (87).

Um polímero molecularmente impresso inorgânico à base de titânio foi sintetizado pelo do processo sol-gel, empregando o corante *Sunset Yellow* como molécula molde e sem o uso de monômero funcional e reagente de ligação cruzada. O MIP foi utilizado como um material de SPE para o isolamento e pré-concentração de corantes com o grupo ácido sulfônico em bebidas (88).

Os trabalhos reportados anteriormente realizaram a síntese do MIP empregando o método não-covalente. Contudo, Zhan *et al.* (89) publicaram em 2013 a síntese de um polímero impresso semicovalente para o corante Laranja Ácido II. A impressão semicovalente combina as vantagens dos métodos covalente e não-covalente, uma vez que a síntese é realizada por meio da ligação covalente entre o analito e o monômero funcional, e o reconhecimento deste analito pelo MIP já sintetizado é realizado por interação não-covalente. Os autores analisaram a eficiência tanto do MIP como do Mag-MIP. Para ambos, o limite de detecção ficou na ordem de ng L^{-1} e a recuperação do corante Laranja Ácido II em amostras alimentícias e ambientais na faixa de 70 a 105%.

Foi desenvolvido um MIP para o corante Laranja Básico II empregando o acrilato glicol rosina maléico como monômero estrutural e não os reagentes tradicionais para esse fim (etileno-glicol-dimetacrilato ou trimetilpropano-trimetacrilato). Segundo os autores, a capacidade de impressão, seletividade e robustez do novo MIP foi superior aos polímeros sintetizados com os reagentes de ligações cruzada tradicional, podendo assim ser empregado como material para SPE na determinação deste corante em alimentos (90).

Um MIP para o corante Sudan I foi desenvolvido por Ren, He e Zhang (91). Para isso foram sintetizados polímeros impressos molecularmente ocos com uma fina casca (*shell*) sólida, sendo que o núcleo (*core*) empregado foi o poliestireno, que após a formação da casca de SiO₂, é removido. Esse tipo de polímero possui boa estabilidade morfológica sem deformação ou ruptura.

Em 2015, Su *et al.* (92) realizaram a extração do corante Rodamina B em amostras de alimento usando Mag-MIP, a metodologia mostrou-se promissora para ser utilizada como material de extração de fase sólida na determinação da adição ilegal deste corante em alimentos.

Como mostrado até este ponto, os polímeros molecularmente impressos são amplamente utilizados como MISPE. No entanto, existem alguns estudos que utilizam o MIP como fase sensora para o desenvolvimento de sensores biomiméticos eletroquímicos.

Um sensor eletroquímico para o corante Sudan I foi desenvolvido a partir da modificação de um eletrodo de carbono vítreo com um filme de MIP para esse corante. O polímero foi sintetizado pelo método sol-gel, com nanopartículas de prata incorporadas para a amplificação do sinal eletroquímico. O monitoramento foi realizado por voltametria de varredura linear e o sensor proposto apresentou alta sensibilidade e boa seletividade quando comparados a compostos com estruturas químicas análogas ao Sudan I (93).

Soysal *et al.* (94) reportaram um sensor eletroquímico empregando eletrodo de pasta de carbono, no qual foi adicionado MIP para o corante Azul de Metileno durante o preparo da pasta o reconhecimento específico do corante. A avaliação da eficiência do polímero impresso foi realizada por voltametria de pulso diferencial, comparando o eletrodo na ausência do polímero impresso e na presença do MIP e NIP (polímero não-impresso, sintetizado da mesma forma que o MIP, no entanto sem adição da molécula molde). Os resultados obtidos mostraram que o eletrodo modificado com MIP foi o que apresentou a mais alta seletividade para o corante azul de metileno quando comparado a moléculas similares estruturalmente (azul de tionina e azul de toluidina).

Desta forma, unindo-se as vantagens que os polímeros molecularmente impressos apresentam com as propriedades químicas dos corantes, que possibilitam o monitoramento na região do espectro do visível, a presente tese apresenta os esforços para realização da síntese de MIP para os corantes têxteis Vermelho Básico 9 (BR9), Verde Ácido 16 (AG16) e Verde de Metila (MG), visando empregá-los como elementos reconhecedores de sensores biomiméticos a base de fibra óptica. Os polímeros sintetizados foram caracterizados empregando diversas técnicas e o desempenho de ligação e seletividade de cada um deles foi avaliado. Adicionalmente, são apresentadas diferentes rotas de imobilização do MIP para o corante BR9 sobre a superfície de fibras ópticas de poliestireno e de vidro visando o desenvolvimento de sensores ópticos.

2 OBJETIVOS

Sintetizar, avaliar o desempenho e caracterizar polímeros molecularmente impressos (MIP) para os corantes têxteis Vermelho Básico 9 (BR9), Verde Ácido 16 (AG16) e Verde de Metila (MG), visando aplicá-los como elementos reconhecedores biomiméticos em sensores a base de fibra óptica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e soluções

Para a síntese dos MIP foram utilizados os seguintes reagentes: Vermelho Básico 9 (BR9), Verde Ácido 16 (AG16), Verde de Metila (MG) e 4,4'-diaminodifenilmetano (APM) como moléculas moldes (*template*); ácido 2-acrilamino-2-metilpropano sulfônico (AMPSA), ácido metacrílico (MAA) e 1-vinilimidazol (1VI) como monômeros funcionais; etileno-glicol-dimetacrilato (EGDMA) como monômero estrutural; 2,2'-azo-*bis*-(2-metilpropionitrila) (AIBN) como iniciador radicalar, todos fornecidos pela Sigma-Aldrich®. O iniciador radicalar 2,2'-azo-*bis*-(2,4-dimetilvaleronitrila) (ABDV) foi fornecido pela DuPont Chemicals® e o monômero funcional acrilonitrila (ACR) fornecidos pela Fluka®. O solvente porogênico empregado foi o metanol (J. T. Baker®). Para a remoção do analito da estrutura do MIP utilizou-se uma mistura de metanol e ácido acético (Synth®).

Na imobilização dos polímeros sobre a superfície da fibra óptica, realizada via oclusão, empregou o poli(vinilálcool) (PVA), enquanto que para a imobilização via silanização foi utilizado viniltrimetoxissilano (VTES) e 3-metacriloxi-propil-trimetoxissilano (MPS) preparados em tolueno seco com carbonato de cálcio anidro. Todos os reagentes utilizados para as imobilizações foram fornecidos pela Sigma-Aldrich®.

Para analisar a interação entre o monômero funcional e os diferentes corantes pela técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) foi utilizado como solvente dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) e metanol deuterado (MeOH- d_4 - CD₃OD), ambos fornecidos pela Sigma-Aldrich®.

Para o preparo da solução tampão HCl/KCl foi empregado o cloreto de potássio (Sigma-Aldrich®) e o ácido clorídrico (Chemis®). Para preparar a solução tampão Britton-Robinson (B-R) 0,4 mol L⁻¹ em diferentes valores de pH para a verificação do meio reacional que favorece a religação do corante AG16 ao MIP utilizou-se ácido acético (HAc), ácido fosfórico (H₃PO₄ - Mallinckrodt®) e ácido bórico (H₃BO₃ - Synth®). O ajuste do valor de pH foi realizado com hidróxido de sódio (NaOH - Synth®).

O estudo de seletividade dos MIP foi realizado utilizando os seguintes corantes: Vermelho Ácido 1 (AR1), Violeta Direto 51 (DV51), Vermelho Ácido 114 (AR114), Amarelo Direto 50 (DY50), todos fornecidos pela Sigma-Aldrich®.

3.2 Instrumentação

As medidas espectrofotométricas foram realizadas em um espectrofotômetro na região do UV-visível com arranjo linear de diodo da Hewlett Packard® modelo 8453 comandado pelo programa *UV-visible Chemstation Software* da Hewlett Packard® modelo HP-845X. Todas as medidas foram realizadas utilizando-se cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico e com comprimento de onda no intervalo de 190 a 800 nm.

A interação entre os corantes e monômeros foi avaliada empregando RMN, sendo que para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foi utilizado espectrômetro Bruker: Fourier 300 (7.0 T) com Easy Probe - sonda de 5 mm, com configuração direta, dois canais (^1H e ^{13}C) e gradiente de campo magnético, auto-sintonizável, operando em uma faixa de temperatura de 5 a 65 °C. Para obtenção dos experimentos de DOZY, COZY, NOESY, HMBC e HSQC foi utilizado espectrômetro Bruker: Avance III 600 HD (14,1 T) com uma BBFO-Z - sonda de 5 mm, com configuração direta, dois canais (^{15}N a $^{31}\text{P}+^{19}\text{F}$ e ^1H) e gradiente de campo magnético, com sistema ATMA para ambos os canais, operando em uma faixa de temperatura de 180 °C a -150 °C e uma TCI CRYO H-C/N-D05-Z - sonda de 5 mm, com configuração inversa e sensibilidade superior para ^{13}C , três canais (^1H , ^{13}C e ^{15}N), com gradiente de campo magnético, sistema ATMA, operando na faixa de temperatura de 0 °C a 80 °C.

As análises para concentrações mais baixas do corante BR9 foram realizadas empregando um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) da marca Shimadzu®, o qual possui os seguintes componentes: detector UV-Vis (modelo SPD-20A), auto-amostrador (modelo SIL-20A), bomba (modelo LC-20AT) e interface (modelo CBM-20A). As condições cromatográficas utilizadas foram as seguintes: uma mistura de água com 0,1% de ácido fórmico e metanol (20:80 v/v) como fase móvel, com fluxo de 0,8 mL min⁻¹, comprimento de onda de 545 nm, volume de injeção de 40 µL e tempo de corrida de 6 min. A coluna cromatográfica foi uma C18 da Phenomenex® Kinetex C18 100A (250 X 4,60 mm e 5 µm de tamanho de partícula), tendo como software para tratamento dos dados o LcSolution®.

As análises de degradação dos corantes foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com espectrometria de massas (CLAE-EM). Para isso foi empregado um cromatógrafo Agilent® equipado com bomba quaternária Agilent® 1200, amostrador automático de alta eficiência Agilent® 1200 e detector de diodo Agilent® 1260 acoplado com espectrômetro de massas 3200 QTRAP (*Linear Ion Trap Quadrupole LC/MS/MS Mass Spectrometer*). Para a análise de massas foi utilizada instrumentação AB Sciex® com

ionização no modo positivo e ionização por eletrospray com a sonda TurboIonSpray®. A coluna e as condições cromatográficas empregadas foram as mesmas descritas anteriormente para o CLAE-UV-Vis da marca Shimadzu®.

Fibras ópticas de poliestireno com 4 cm de comprimento, fornecidas pela Research International® (Monroe, WA, EUA), foram utilizadas para a imobilização dos polímeros via oclusão. As análises com o MIP para o corante BR9 imobilizado sobre essa fibra óptica foram realizadas em um espectrofluorímetro Jobin-Yvon Horiba® Fluorolog-2, no modo de absorbância no intervalo de comprimento de onda entre 540 e 560 nm.

Para a imobilização via silanização foi empregado um feixe bifurcado de fibras ópticas de sílica, fornecido pela Newport®, acoplada ao espectrofotômetro UV-vísivel com arranjo linear de diodo da Hewlett Packard® modelo 8453 (o mesmo descrito anteriormente).

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

A morfologia e a caracterização da superfície dos polímeros foram observadas por meio de um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução com fonte de elétrons por emissão de campo (FEG-SEM) Jeol JSM 6330F.

O estudo da porosidade do MIP em função da temperatura de pré-tratamento foi realizado por meio de estudos de adsorção de N_2 , sob baixas temperaturas de operação e pressões relativas da ordem de 200 mmHg. As medidas de BET foram realizadas em um equipamento da Micromeritics®, modelo ASAP 2010.

Para a avaliação do comportamento térmico dos polímeros foi empregado um termoanalisador SDT 2960, da TA Instruments®. Este sistema é constituído com um comparador de massa horizontal, forno capaz de operar no intervalo de temperatura de 25 °C a 1500 °C. As análises foram realizadas no intervalo de 30 a 500 °C, razão de aquecimento de 10 °C min^{-1} , atmosfera de ar seco com vazão de 100 mL min^{-1} .

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

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

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

3.3 Simulação computacional

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

Para isto, foram empregados os seguintes programas:

1. **HyperChem® 8.0.5:** utilizado para modelagem das moléculas a serem utilizadas na síntese dos MIP.
2. **OpenEye®** (pacote de *softwares*) contendo os programas:
 - *VIDA 3.0.0:* utilizado para visualizar as moléculas modeladas e para conferir possíveis erros de ligações entre átomos.
 - *Omega2:* gera diversos confôrmeros das moléculas, o que torna possível levar em consideração possíveis impedimentos espaciais. Por padrão, são gerados 10 confôrmeros de cada corante, sendo escolhidos 3 ao acaso para realizar os testes simulatórios.
 - *Szybki 1.2.2:* programa que leva a molécula até seu estado de menor energia e, portanto, mais estável.
3. **AutoIt 3.3.6.0:** aplicativo que utiliza linhas de comandos (*scripts*) para automatizar processos repetitivos durante a modelagem molecular, eliminando erros humanos durante os procedimentos.
4. **Multiple Minima Hypersurfaces (MMH) com MOPAC (Molecular Orbital PACKage) 2009:** utilizado para realizar as simulações propriamente ditas. Este programa faz a aproximação dos monômeros com a molécula que será usada como molde calculando a energia liberada, resultando assim a afinidade entre os mesmos. MOPAC é um utilitário que emprega química quântica semi-empírica para os cálculos de aproximação.

Foram avaliados os 20 monômeros mostrados na Tabela 1, os quais foram nomeados de MP1 a MP20 para fins de simplicidade de análise dos resultados.

Tabela 1 - Monômeros comumente utilizados na síntese de MIP e escolhidos para realização da simulações computacionais.

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

Fonte: autor do trabalho.

3.4 Síntese dos polímeros molecularmente impressos

Diferentes sínteses dos polímeros impressos foram realizadas para cada um dos corantes estudados no presente trabalho. Foram avaliados o monômero funcional, a proporção entre os reagentes e o método de síntese que proporcionam melhor religação do analito às cavidades específicas do MIP.

Os MIP descritos a seguir foram sintetizados pelo método de polimerização em *bulk* (solução), em meio homogêneo. Para o corante BR9 foram analisados os resultados obtidos a partir dos produtos da síntese por precipitação.

Para a obtenção dos polímeros, a reação foi conduzida em frascos selados contendo inicialmente: analito (molécula molde), monômero funcional e solvente. Esta mistura foi deixada em repouso por 4 h para a interação entre o monômero e o analito. Após este tempo, o monômero estrutural foi acrescentado e o meio reacional desaerado sob fluxo de N₂ durante 10 min para remoção do oxigênio da solução. Em seguida, o iniciador radicalar foi adicionado

e a solução foi desaerada com N₂ por mais 5 min. Finalmente, as reações foram induzidas por aquecimento durante 12 h em banho-maria a 40 °C ou 60 °C, de acordo com o iniciador radicalar utilizado: ABDV e AIBN, respectivamente (57,95,96). A quantidade de cada um dos componentes empregados para a síntese é especificada nos subitens a seguir, que detalha cada síntese.

Após a moagem e tamisagem ($\leq 180 \mu\text{m}$), os polímeros resultantes foram submetidos à lavagem. Primeiramente, foi realizada uma lavagem a frio com metanol, empregando um sistema de filtração a vácuo, visando à remoção de uma grande porcentagem de corante empregado no procedimento de síntese. Posteriormente, os polímeros foram lavados utilizando soxhlet com 100 mL de solução metanol e ácido acético na proporção 7:3 (v/v) até a total remoção da molécula molde da estrutura do MIP, sendo a solução trocada a cada 12 h. Para eliminar o ácido acético dos polímeros, a última lavagem foi realizada somente com metanol. O monitoramento da remoção de corante das cavidades do MIP foi realizado por medidas de absorbância na região do UV-Vis.

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

3.4.1 Síntese do MIP para o corante BR9

Foram empregados dois diferentes monômeros funcionais para a síntese do MIP para o corante BR9: acrilonitrila e AMPSA. Além disso, foi analisada também a síntese de um MIP para o corante BR9, porém empregando o 4,4'-diaminodifenilmetano como molécula-molde.

As sínteses descritas nos itens 3.4.1.2, 3.4.1.3 e 3.4.1.4, assim como as avaliações do desempenho desses polímeros, foram realizadas durante o doutorado sanduíche no laboratório do Prof. Karsten Haupt, na Universidade de Tecnologia de Compiègne, na França. Os polímeros avaliados durante o estágio internacional foram sintetizados empregando o ABDV como iniciador radicalar e a remoção da molécula molde realizada com metanol e ácido acético (7:3) com incubação de 1 h, seguido da centrifugação por 30 min a 15.000 rpm. O sobrenadante foi eliminado e o processo repetido até a total remoção do corante da estrutura do MIP.

3.4.1.1 Empregando a acrilonitrila como MF

Esse monômero foi escolhido por ter apresentado maior energia de ligação com o corante BR9 segundo a simulação computacional. A análise de duas diferentes sínteses com a acrilonitrila foi realizada, diferenciando a razão molar entre MM, MF e ME. As proporções e quantidade dos reagentes utilizados para cada uma das sínteses são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP empregando a acrilonitrila como monômero funcional.

Razão molar entre BR9:ACR:EGDMA	Método	BR9 (mmol)	ACR (mmol)	EGDMA (mmol)	AIBN (mmol)	MeOH (mL)
1:500:2000	<i>Bulk</i>	0,02	10	40	0,4	3,0
1:3:200		0,02	0,06	4	0,06	1,5

Fonte: autor do trabalho.

3.4.1.2 Empregando o ácido metacrílico como MF

A síntese com esse monômero foi adaptada de Kyzas *et al.* (82). Optou-se por utilizar um monômero com caráter ácido devido ao caráter básico do analito. Sendo que apenas uma razão molar entre os reagentes foi analisada (Tabela 3).

Tabela 3 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP empregando o MAA como monômero funcional.

Razão molar entre BR9:MAA:EGDMA	Método	BR9 (mmol)	MAA (mmol)	EGDMA (mmol)	ABDV (mmol)	MeOH (mL)
1:4:20	<i>Bulk</i>	0,1	0,4	2	0,06	5

Fonte: autor do trabalho.

3.4.1.3 Empregando o AMPSA como MF

Outra síntese foi utilizando o AMPSA como monômero funcional baseado no protocolo de Andersson *et al.* (97). Duas razões molares dos principais componentes da síntese polimérica e dois diferentes métodos de polimerização (*bulk* e precipitação) foram estudados, sendo que a quantidade de cada reagente é apresentada na Tabela 4.

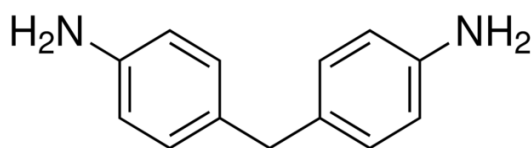
Tabela 4 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP empregando o AMPSA como monômero funcional.

Razão molar entre BR9:AMPSA:EGDMA	Método	BR9 (mmol)	AMPSA (mmol)	EGDMA (mmol)	ABDV (mmol)	MeOH (mL)
1:3:20	<i>Bulk</i>	0,20	0,60	4	0,06	1,5
1:3:200		0,02	0,06	4	0,06	1,5
1:3:200	Precipitação	0,02	0,06	4	0,06	15

Fonte: autor do trabalho.

3.4.1.4 Empregando o 4,4'-diaminodifenilmetano (APM) como MM

Um composto com estrutura análoga ao corante BR9 foi utilizado para uma síntese alternativa do MIP, esse procedimento é conhecido como *pseudo-template* (98). O composto utilizado para essa síntese foi o 4,4'-diaminodifenilmetano (Figura 7) (97). Esse composto não apresenta cor, então consequentemente o polímero resultante é branco, evitando o risco de haver interferência nas medidas ópticas devido à coloração do polímero.

Figura 7 - Estrutura do 4,4'-diaminodifenilmetano (APM).

Fonte: estrutura baseada no site da empresa Sigma-Aldrich®.

Esta síntese foi avaliada somente com a razão de 1:3:200, cujas quantidades são mostradas na Tabela 5.

Tabela 5 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP empregando o APM como molécula molde.

Razão molar entre APM:AMPSA:EGDMA	Método	AMP (mmol)	AMPSA (mmol)	EGDMA (mmol)	ABDV (mmol)	MeOH (mL)
1:3:200	<i>Bulk</i>	0,02	0,06	4	0,06	1,5

Fonte: autor do trabalho.

3.4.2 Síntese do MIP para o corante AG16

A síntese do MIP para o corante AG16 foi análoga ao polímero sintetizado para o corante BR9, exceto pelo monômero funcional utilizado, pois como o corante AG16 apresenta caráter ácido, empregou-se o 1-vinilimidazol que é um monômero com característica básica.

Para esse corante, foram avaliadas duas diferentes razões molares (1:3:20 e 1:3:200) entre MM, MF e ME. A quantidade dos reagentes utilizados para cada uma das sínteses é apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP para o corante AG16.

Razão molar entre AG16:1VI:EGDMA	Método	AG16 (mmol)	1VI (mmol)	EGDMA (mmol)	AIBN (mmol)	MeOH (mL)
1:3:20	<i>Bulk</i>	0,2	0,6	4	0,06	1,5
1:3:200		0,02	0,06	4	0,06	1,5

Fonte: autor do trabalho.

3.4.3 Síntese do MIP para o corante MG

Foram avaliadas duas diferentes sínteses na mesma razão molar entre MM, MF e ME de MIP para o corante MG, variando os monômeros funcionais (MAA e 1VI). A quantidade dos reagentes utilizados para cada uma das sínteses é apresentada na Tabela 7.

Tabela 7 - Quantidade dos reagentes para a síntese de MIP para o corante MG.

Monômero funcional utilizado	Método	MG (mmol)	Monômero (mmol)	EGDMA (mmol)	AIBN (mmol)	MeOH (mL)
MAA	<i>Bulk</i>	0,02	0,06	4	0,06	1,5
1-VI		0,02	0,06	4	0,06	1,5

Fonte: autor do trabalho.

3.5 Avaliação do MIP sintetizado com acrilonitrila por meio da religação do corante BR9 em diferentes concentrações

A avaliação do desempenho do MIP sintetizado com acrilonitrila na proporção 1:500:2000 frente ao corante BR9 foi realizada por meio de isotermas de adsorção (99,100). A isoterma de adsorção representa a quantidade de um determinado soluto adsorvido por uma superfície adsorvente (Q), em função da concentração de equilíbrio do soluto. Para se construir uma isoterma de adsorção, coloca-se em contato a solução contendo o componente a ser adsorvido (no caso, o corante BR9) em diferentes concentrações e em temperatura constante até o equilíbrio, determinando-se assim a quantidade de material adsorvido (101). O valor de Q para a construção da curva consistiu na quantidade em massa do analito retido por massa de adsorvente (MIP ou NIP) empregado (Equação 1).

$$Q = \frac{(C - C_f) \cdot V}{m_{pol}} \quad (\text{Equação 1})$$

Para essa análise, inicialmente, 5,0 mg de polímero (MIP e NIP) foram adicionados em diferentes frascos, em seguida, adicionaram-se 3,0 mL da solução do corante diluído em água em diferentes concentrações. Os frascos foram vedados e as soluções ficaram sob agitação durante 12 h. Após esse período, as soluções foram filtradas e realizadas medidas empregando espectrofotômetro UV-Vis.

Com o objetivo de maximizar a retenção do analito pelo MIP, estudaram-se as melhores condições variando-se diferentes parâmetros, dentre eles: tempo de interação, pH, solução e massa de adsorvente.

3.6 Estudo de afinidade dos corantes BR9, AG16 e MG aos demais MIP sintetizados

Para analisar a eficiência da religação dos corantes ao MIP, diferentes concentrações de suspensões poliméricas foram preparadas usando diferentes soluções: água, diferentes concentrações de solução aquosa de amônia e solução tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ a pH 2, 5, 7, 9 e 12. Em cada suspensão polimérica, foi adicionado o corante BR9 na concentração de 10 µmol L⁻¹ ou o corante AG16 30 µmol L⁻¹ ou o corante MG 20 µmol L⁻¹.

As soluções foram deixadas sob agitação constante por 4 h, seguido da centrifugação por 30 min a 15.000 rpm. Então, as medidas de absorbância foram realizadas com o sobrenadante desta mistura, usando os comprimentos de onda fixo em 242 nm ou 545 nm para o corante BR9, em 642 nm para o corante AG16 e em 636 nm para o corante MG.

Com a definição da concentração polimérica e a solução que propiciavam a melhor religação do analito aos respectivos polímeros, foi avaliado o melhor tempo de interação entre o corante e o MIP. Para isso, a concentração de cada MIP foi fixada em 8 mg mL⁻¹ e dos corantes BR9, AG16 e MG em 10, 30 e 20 µmol L⁻¹, respectivamente, e a mistura colocada sob constante agitação em diferentes intervalos de tempo.

Após a otimização de todos esses parâmetros, isotermas de adsorção dos corantes aos respectivos MIP foram construídas fixando-se a concentração da suspensão polimérica em 8 mg mL⁻¹ e variando-se a concentração dos corantes. Todos os experimentos foram realizados em água. As soluções ficaram sob agitação durante o tempo ótimo para cada analito, posteriormente foram centrifugadas e as medidas de absorbância foram realizadas com o sobrenadante desta mistura, monitorando o comprimento de onda de 545 nm, 642 nm e 636 nm, respectivamente.

3.7 Cálculo do pK_a dos corantes

Para o cálculo do pK_a dos corantes, preparou-se uma solução $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ do corante BR9 e $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ do AG16 em diferentes valores de pH no intervalo compreendido de 0,5 a 13,5. Em seguida, medidas espectrofotométricas foram realizadas e construiu-se curvas de absorbância em função do pH, registrando-se as absorbâncias nos comprimentos de ondas de 243 nm e 542 nm para o BR9 e 640 nm para o AG16.

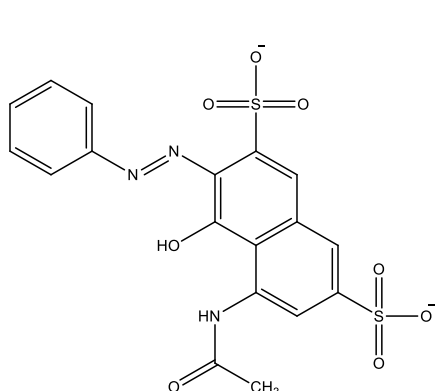
3.8 Estudo de seletividade do MIP para os corantes BR9 e AG16

Este estudo teve como objetivo avaliar se as cavidades formadas na estrutura do MIP são seletivas para o corante que foi empregado como molécula molde. A análise consiste na comparação da porcentagem de religação do analito de interesse e dos demais corantes interferentes aos polímeros.

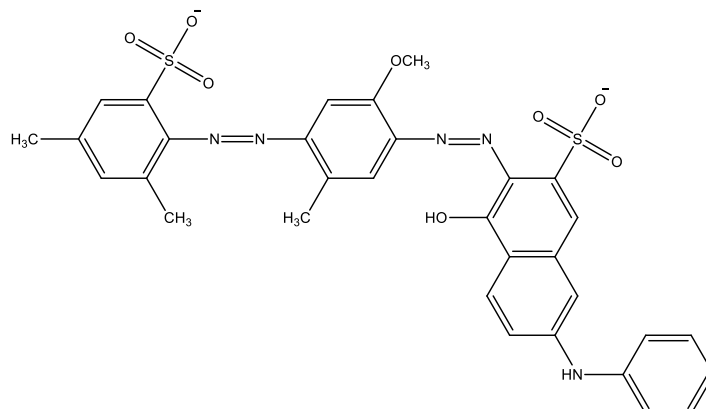
A seletividade do MIP sintetizado com o BR9 como molécula molde foi realizada frente aos corantes AG16, MG, AR1, DV51, AR114 e DY50. Já o MIP para o corante AG16 teve os mesmos corantes avaliados como interferentes, com a substituição do AG16 pelo corante BR9. As estruturas dos interferentes são apresentadas nas Figuras 1, 2, 3 e 8.

Para a realização deste estudo, fixou-se a massa dos polímeros MIP/NIP em 8 mg mL^{-1} e a concentração das soluções dos corantes em $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. As amostras foram mantidas sob agitação por 4 h quando o MIP para BR9 foi analisado e por 1 h para o MIP cuja molécula molde foi o AG16. Após o tempo de incubação, as amostras foram centrifugadas por 30 min a 15.000 rpm. Então, as medidas de absorbância foram realizadas com o sobrenadante resultante, utilizando os comprimentos de onda característicos de cada corante.

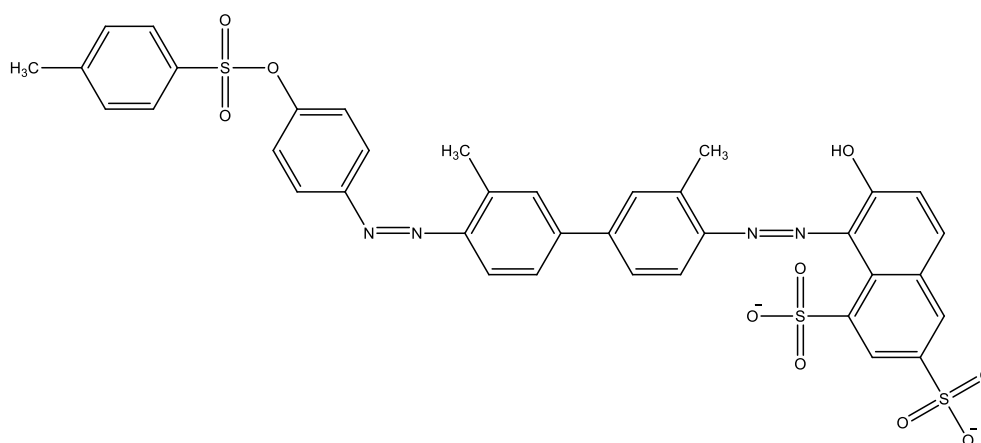
Figura 8 - Estrutura dos corantes empregados como interferentes com o respectivo comprimento de onda de absorção máximo: Vermelho Ácido 1 (AR1), Violeta Direto 51 (DV51), Vermelho Ácido 114 (AR114) e Amarelo Direto 50 (DY50).



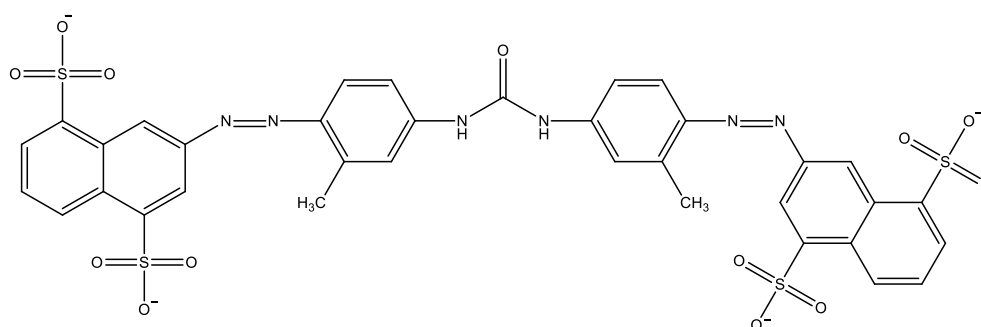
Vermelho Ácido 1 (AR1) / $\lambda_{\text{máx}} = 536 \text{ nm}$



Violeta Direto 51 (DV51) / $\lambda_{\text{máx}} = 552 \text{ nm}$



Vermelho Ácido 114 (AR114) / $\lambda_{\text{máx}} = 526 \text{ nm}$



Amarelo Direto 50 (DY50) / $\lambda_{\text{máx}} = 396 \text{ nm}$

Fonte: estruturas baseadas no site da empresa Sigma-Aldrich®.

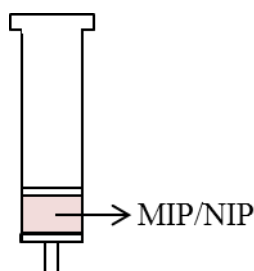
3.9 Aplicação dos MIP para os corantes BR9 e AG16 em amostra de efluente industrial têxtil

Para verificar a eficiência de retenção dos corantes contidos em uma amostra de efluente industrial têxtil ao MIP foi utilizada a técnica de extração em fase sólida (SPE), com

o intuito de pré-concentrar o analito no MIP e, conseqüentemente, verificar a dessorção/extração dos corantes.

A análise foi realizada por meio da adição de 100 mg de MIP/NIP, tanto para o corante BR9 como para o corante AG16, empacotados em cartuchos de SPE conforme esquematizado na Figura 9, que passará a ser chamado MISPE (cartucho de extração em fase sólida contendo MIP).

Figura 9 - Esquema do empacotamento do MIP em um cartucho SPE.



Fonte: autor do trabalho.

O condicionamento dos cartuchos de MISPE foi realizado pela passagem de 10,00 mL de água com um fluxo de $2,00 \text{ mL min}^{-1}$.

A análise foi realizada com o preparo de uma solução padrão de cada um dos corantes e contaminando uma amostra de efluente com os analitos em estudo. Tanto a solução padrão como a contaminação da amostra foi realizada na concentração de $6,25$ e $4,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ do corante BR9 e AG16, respectivamente.

A amostra de efluente foi fornecida por uma indústria têxtil da cidade de Araraquara e foi informado previamente pela empresa que a amostra fornecida não continha os corantes a serem analisados (BR9 e AG16).

Para realizar a pré-concentração, 25,00 mL da solução padrão ou da amostra contaminada foi passada a vácuo através dos MISPE.

Finalmente, para realizar a etapa de eluição dos corantes, passou-se 10,00 mL de metanol nos cartuchos contendo MIP para o corante AG16 e 25,00 mL de metanol para o corante BR9. Desta forma, a concentração do corante AG16 foi aumentada em 2,5 vezes. Enquanto que não houve aumento na concentração da solução de BR9, uma vez que 10,00 mL de metanol não foram suficientes para a eluição de todo o corante retido pelo MIP.

Após a eluição dos corantes dos cartuchos de MISPE, a solução foi analisada em um espectrofotômetro na região do UV-Vis.

Como método comparativo, a amostra contaminada com o corante BR9 foi passada em cartuchos comerciais contendo como materiais adsorventes C18, MIP para fluoroquinolona e MIP para nitroimidazol.

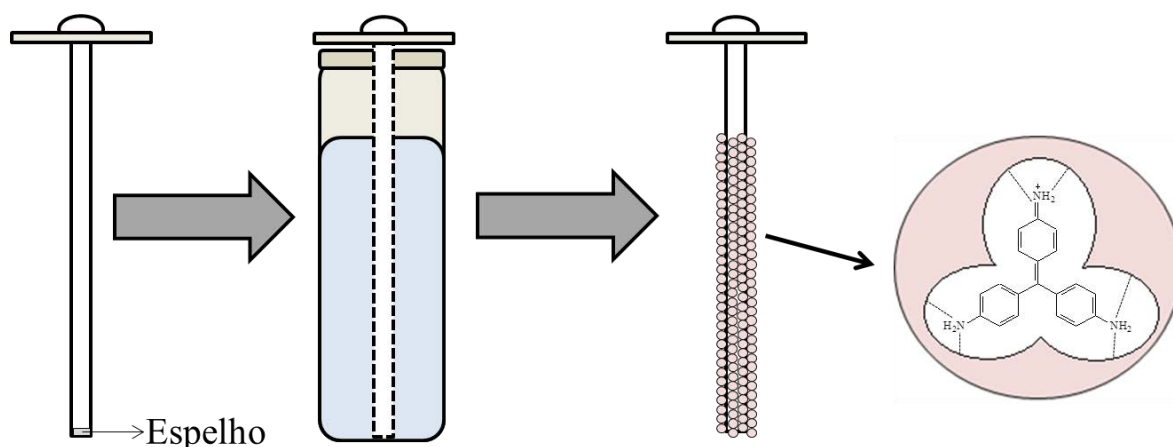
3.10 Imobilização de polímeros impressos sobre a superfície da fibra óptica

A imobilização de MIP/NIP sobre a superfície da fibra óptica foi avaliada somente com os polímeros sintetizados para o corante BR9. Foram realizados dois tipos de imobilização deste polímero sobre a fibra óptica: por oclusão e por ligação covalente via silanização. Além disso, foram empregados dois tipos diferentes de fibras ópticas: um guia de luz de poliestireno com 4 cm de comprimento 0,72 mm de diâmetro, e um feixe bifurcado de fibras ópticas de vidro de 3,0 mm de diâmetro.

3.10.1 Modificação da fibra óptica de poliestireno

A imobilização da fibra óptica de poliestireno via oclusão foi realizada em um frasco com 4,00 mL de água e 20 mg mL⁻¹ de suspensão polimérica para o corante BR9 (MIP ou NIP) e 60 mg mL⁻¹ de PVA. A fibra óptica foi mantida nesta solução a 90 °C durante 30 min sob suave agitação. Em seguida, o aquecimento foi desligado e a solução resfriada até a temperatura ambiente, mantendo a agitação constante. Após isso, a fibra óptica foi mantida sob refrigeração até o seu uso. O esquema dessa imobilização é apresentado na Figura 10.

Figura 10 - Esquema da imobilização do MIP para o corante BR9 sobre o guia de luz de poliestireno.



Fonte: autor do trabalho.

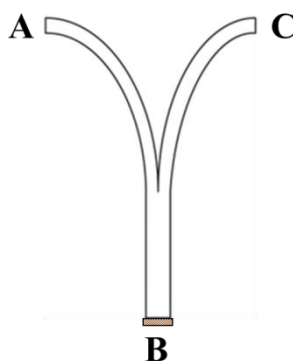
3.10.2 Modificação da fibra óptica bifurcada de vidro

Para a imobilização do MIP sobre a fibra, foi empregada uma fibra óptica bifurcada de vidro que foi acoplada ao espectrofotômetro UV-Vis com arranjo linear de diodo da Hewlett Packard® modelo 8453, utilizando o detector do espectrofotômetro e a fonte de radiação externa da Oriel® (modelo 68831). A fonte de radiação externa foi utilizada porque a intensidade do feixe de luz fornecida pelo espectrofotômetro não possui potência suficiente para percorrer toda a fibra óptica e ser monitorada pelo detector.

Desta forma, uma extremidade do feixe bifurcado foi acoplada à fonte de radiação (Figura 11A), enquanto a outra foi acoplada ao espectrofotômetro (Figura 11C) para o monitoramento do sinal analítico que atravessa a amostra (Figura 11B).

A imobilização do MIP sobre a fibra óptica, seja pelo método da oclusão ou pela silanização, foi realizada na extremidade B da Figura 11.

Figura 11 - Esquema do feixe bifurcado de fibra óptica para o desenvolvimento do sensor óptico, sendo (A) a extremidade que é acoplada a fonte de radiação, (B) a fase sensora contendo o MIP imobilizado que estará em contato com a amostra e (C) a extremidade que é acoplada ao detector do espectrofotômetro.



Fonte: autor do trabalho.

Antes de iniciar a imobilização dos polímeros sobre a fibra óptica bifurcada foi realizada a limpeza da superfície da fibra. Para isso, a superfície do feixe de fibras ópticas foi submetida ao polimento mecânico empregando uma politriz e lixa d'água, primeiramente, com granulometria 180 e, em seguida, com granulometria 800. Após essa etapa, a fibra foi imersa em etanol absoluto por 1 h e, posteriormente, em HNO₃ 5% (v/v) por 30 min. Finalmente, a fibra foi lavada com água deionizada e seca a temperatura ambiente (44).

3.10.2.1 Imobilização por oclusão

Essa imobilização foi análoga à descrita na seção 3.10.1 com pequenas adaptações devido à mudança da fibra.

Em um frasco, foram adicionados 4 mL de água com 20 mg mL⁻¹ de suspensão polimérica para o corante BR9 (MIP ou NIP) e 60 mg mL⁻¹ de PVA. Uma das extremidades do feixe de fibra óptica foi mantida nesta solução a 90 °C durante 30 min sob agitação constante. Em seguida, o aquecimento foi desligado e a solução resfriada até a temperatura ambiente, mantendo a agitação. Posteriormente, a fibra foi removida desta solução e deixada na posição vertical à temperatura ambiente durante 18 h para secagem.

3.10.2.2 Imobilização por silanização

A silanização foi realizada pela introdução do feixe de fibra óptica em solução 5% (v/v) de VTES ou MPS preparadas em tolueno seco, durante 1 h sob agitação constante e à temperatura ambiente. Em seguida, o feixe foi mantido em tolueno seco durante 20 min para a remoção do excesso de agente silanizante não ligado e, então, lavado com etanol. Posteriormente, o feixe de fibras silanizado foi seco à temperatura ambiente (44). Para a obtenção de tolueno desidratado, foi acrescentado qualitativamente carbonato de cálcio anidro ao solvente e deixado em repouso por, aproximadamente, 16 h.

Para a imobilização dos polímeros sobre o feixe de fibras ópticas silanizado, a síntese do polímero foi realizada conforme já descrita anteriormente (item 3.4.1.3), tendo como diferença a introdução do feixe de fibras ópticas na solução reacional.

A síntese do MIP foi realizada pelo método da precipitação, empregando 0,02 mmol do corante BR9; 0,06 mmol de AMPSA; 4 mmol de EGDMA; 0,06 mmol de AIBN e 40 mL de metanol. O corante e o monômero funcional foram deixados em contato durante 4 h em metanol. Após esse tempo, foram acrescentados o monômero estrutural e o iniciador, e borbulhou-se nitrogênio por 15 min. Em seguida, a solução foi colocada em banho-maria a 60 °C durante 1 h, com o feixe de fibra óptica imerso na solução, com constante desaeração com N₂.

Com a polimerização concluída, o feixe de fibra óptico foi lavado com água deionizada e imerso em uma mistura de metanol/ácido acético (7:3) durante 20 min com agitação constante. Esse processo foi repetido até a completa remoção da molécula molde.

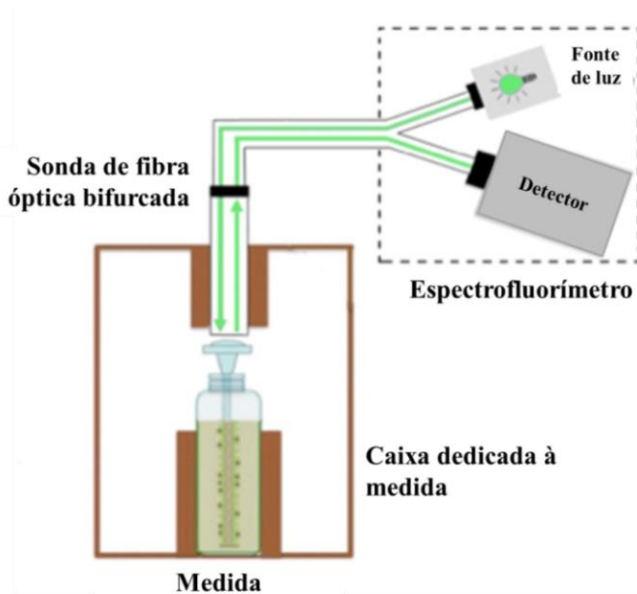
3.11 Análise da religação do corante BR9 aos polímeros imobilizados sobre a fibra óptica de poliestireno

Para os estudos de religação, as fibras ópticas recobertas com MIP e NIP foram colocadas em frascos de vidro de 4 mL contendo, inicialmente, somente água. Em seguida, a análise de religação foi conduzida por meio de adições sucessivas da solução padrão do corante BR9 ao frasco contendo água para a obtenção das seguintes concentrações: 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A cada adição do corante BR9, deixou-se o analito interagir com o polímero durante 10 min sob agitação suave. Após a incubação, a fibra recoberta com o polímero e com o corante religado foi colocada em um frasco contendo somente água para monitoramento da absorbância.

O sinal óptico foi monitorado por um espectrofluorímetro na função de absorbância. Para isso, a sonda de fibra óptica bifurcada do equipamento foi utilizada para injetar a luz à guia de onda com os polímeros revestidos. A luz que não foi absorvida pelo corante religado ao MIP foi refletida pelo espelho que está localizado na ponta do guia de luz de poliestireno e, então, foi transportada pela fibra óptica bifurcada até o detector do espectrofluorímetro (Figura 12). A intensidade da luz medida foi convertida à absorbância utilizando a Equação 2, onde A representa a absorbância, I_1 a intensidade da luz registrada na presença de polímero e corante e I_0 sendo a intensidade da luz registrada com o polímero isoladamente.

$$A = -\log \frac{I_1}{I_0} \quad (\text{Equação 2})$$

Figura 12 - Esquema da detecção do corante BR9 empregando o espectrofluorímetro Horiba.



Fonte: adaptado de Foguel *et al.* (2015) (102).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão serão dispostos em três tópicos (4.1, 4.2 e 4.3), sendo cada tópico dedicado a um corante diferente: Vermelho Básico 9, Verde Ácido 16 e Verde de Metila, respectivamente.

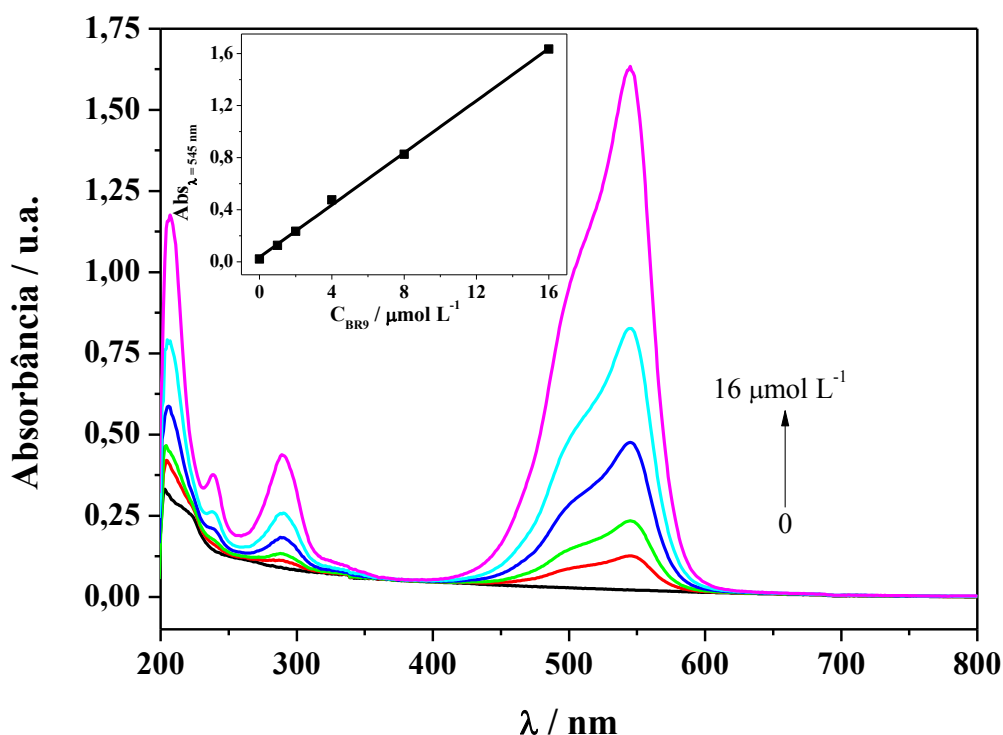
4.1 MIP para o corante BR9

Os subitens do tópico 4.1 apresentam os resultados obtidos para as diferentes sínteses dos polímeros impressos realizadas para o corante BR9, assim como a caracterização dos polímeros, estudos de religação e seletividade, aplicação em amostra de efluente e como elemento reconhecedor de sensores químicos a base de fibras ópticas.

4.1.1 Espectro de absorbância e curva analítica

Para determinar o comprimento de onda em que o corante BR9 apresenta máxima absorbância, foram realizados espectros de absorção no intervalo de 200 a 800 nm. O perfil do espectro de absorbância na região do UV-Vis do corante BR9 em diferentes concentrações é apresentado na Figura 13.

Figura 13 - Espectro de absorbância na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água. *Inset*: Curva analítica referente à absorbância máxima em 545 nm.



Fonte: autor do trabalho.

O corante BR9 apresenta duas bandas de maior intensidade. A primeira em 290 nm, região do ultravioleta, correspondente às transições eletrônicas das duplas ligações conjugadas presentes na estrutura do corante, e a segunda banda na região do visível em 545 nm, referente ao grupo cromóforo do corante.

Nas etapas subsequentes, o monitoramento da absorbância do corante será realizado em 545 nm devido à maior sensibilidade e confiabilidade neste comprimento de onda.

A curva analítica construída com a absorbância neste comprimento de onda mostrou-se linear no intervalo de 0 a 16 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e coeficiente de correlação igual a 0,99865.

$$\text{Abs} = 0,03545(\pm 0,01242) + 100161(\pm 1648) C_{\text{BR9}} \quad (\text{Equação 3})$$

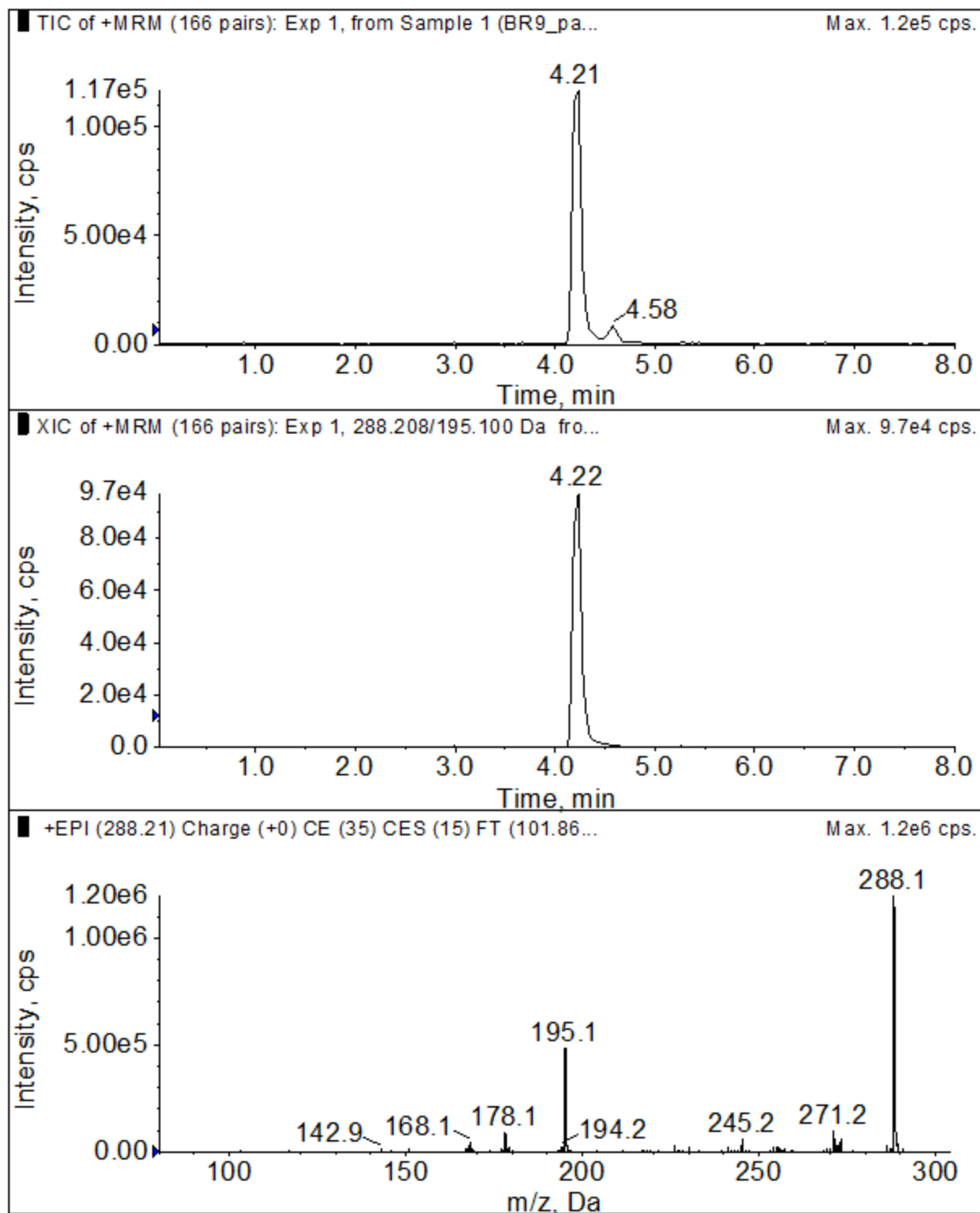
4.1.2 Análise da degradação do corante BR9 por CLAE-EM

Uma importante informação durante o desenvolvimento de um sensor ambiental é a estabilidade do analito que se deseja identificar e quantificar. Pois, se o composto apresentar uma rápida degradação, sua determinação no meio ambiente se torna inviável, se tornando mais interessante, neste caso, desenvolver um sensor para os produtos de degradação do analito.

Por essa razão, a estabilidade do corante BR9 foi avaliada. Para isso, uma solução do corante na concentração de 10 mg mL^{-1} foi preparada em água deionizada e exposta à luz solar natural durante 7 (Figura 15) e 20 dias (Figura 16) ininterruptos. Após esse período, as soluções foram analisadas pela técnica de CLAE-EM. Para realizar a comparação do sinal cromatográfico e da fragmentação dos íons do corante, uma solução padrão do corante BR9 recém-preparada na concentração de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foi analisada, e os cromatogramas e o espectro dos íons fragmentados são mostrados na Figura 14.

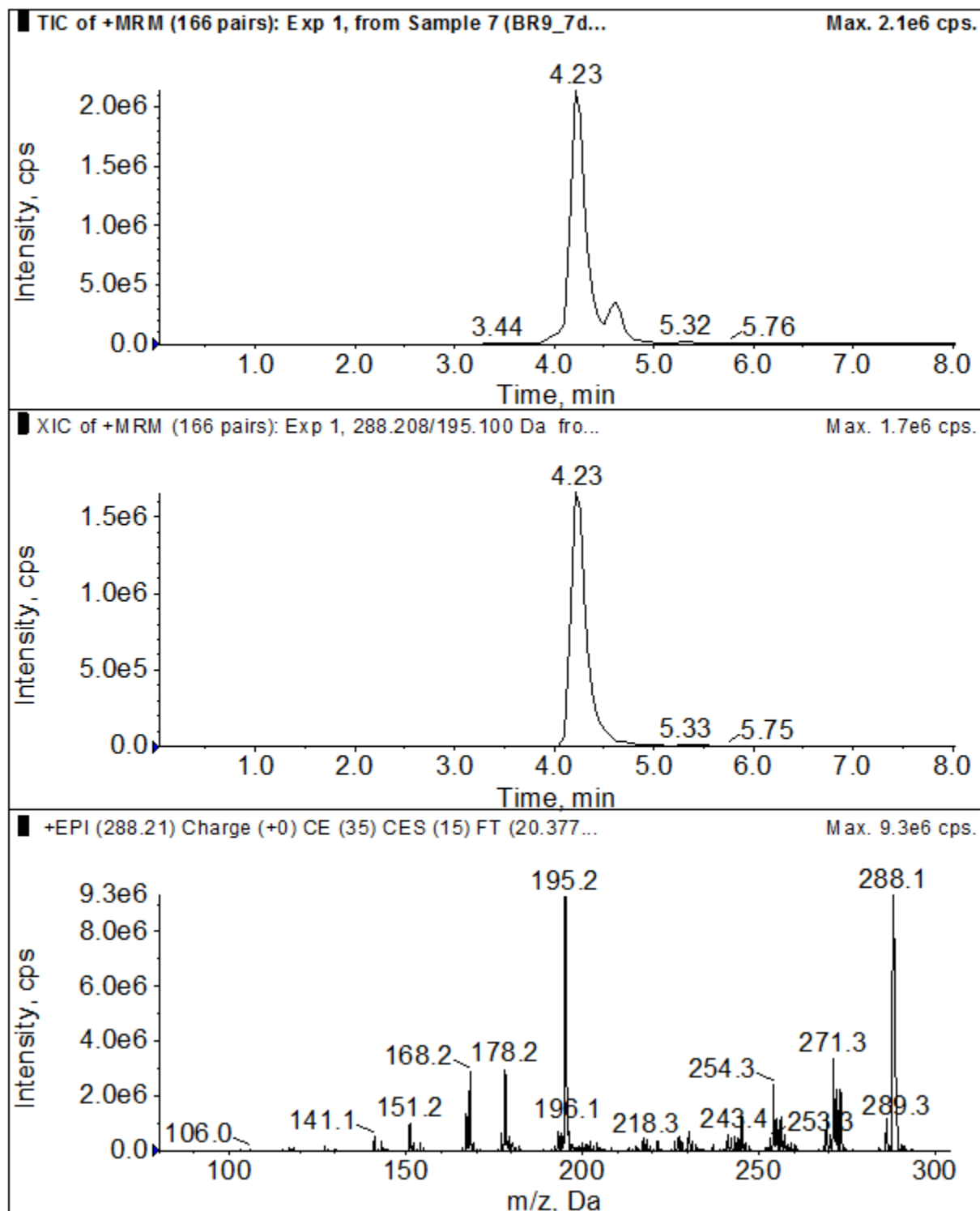
Este estudo foi realizado de forma qualitativa, de forma que o objetivo não foi quantificar a porcentagem de degradação do corante e nem avaliar os produtos de degradação formados. Mas somente verificar a possibilidade de detectar o corante na sua forma inicial após alguns dias de exposição à luz solar.

Figura 14 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 288 (BR9) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 288 em 4,22 min para o padrão BR9.



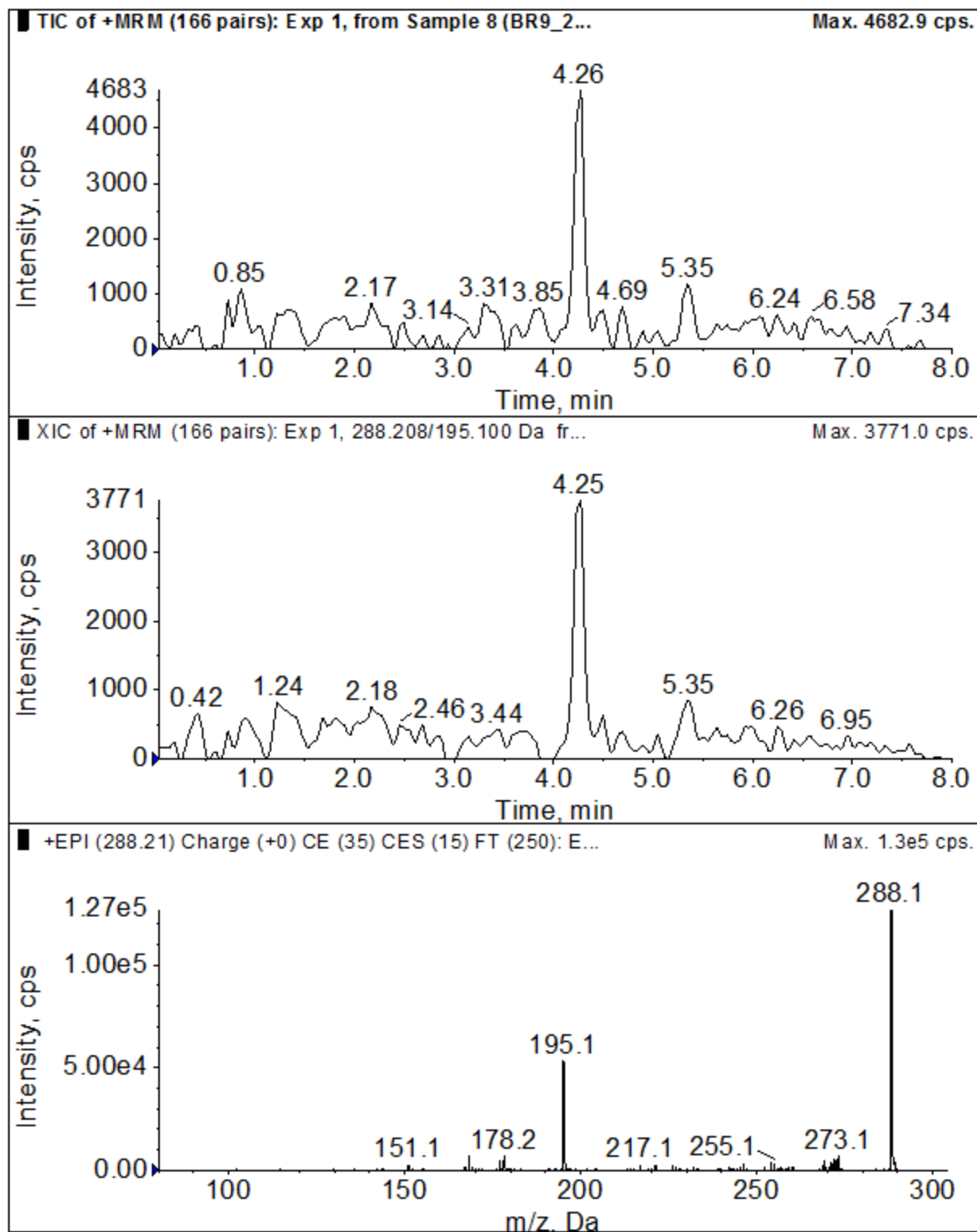
Fonte: autor do trabalho.

Figura 15 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 288 (BR9) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 288 em 4,23 min para a solução de corante BR9 exposta à luz solar por 7 dias.



Fonte: autor do trabalho.

Figura 16 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 288 (BR9) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 288 em 4,25 min para a solução de corante BR9 exposta à luz solar por 20 dias.



Fonte: autor do trabalho.

O pico referente ao corante BR9 foi observado após 7 e 20 dias de exposição das soluções do composto à luz solar e a fragmentação dos íons referente ao pico nos diferentes cromatogramas apresentou m/z do corante BR9 no valor de 288.

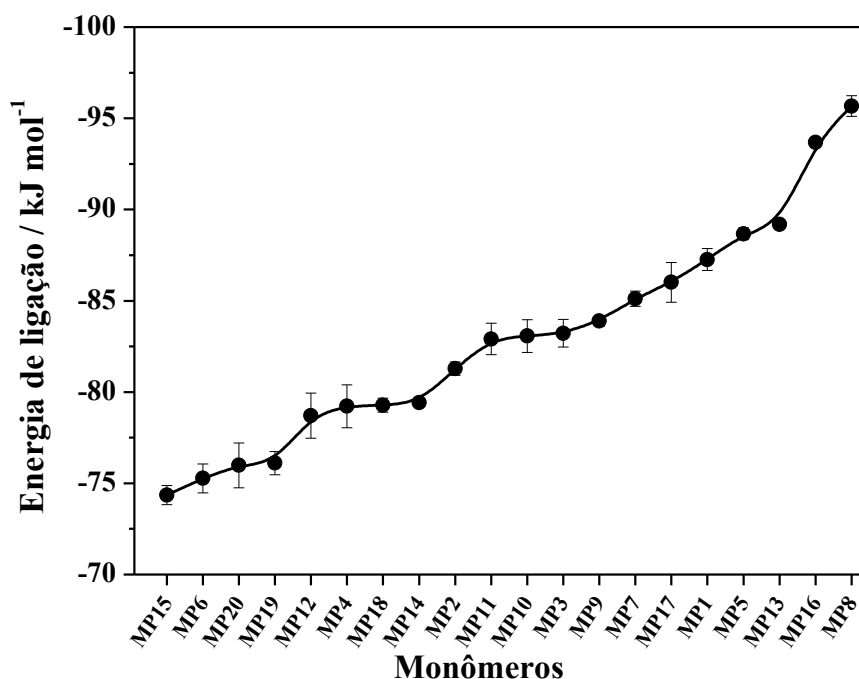
No entanto, a partir das intensidades do pico cromatográfico, nota-se que houve uma grande degradação do composto após 20 dias quando comparado ao resultado de 7 dias. Cabe ressaltar que esses valores de intensidade podem ser comparados para obter uma estimativa da degradação, pois ambas as soluções apresentavam a mesma concentração inicialmente. Entretanto não é possível comparar com a intensidade do pico da solução padrão recém-preparada do corante por apresentar uma concentração diferente das outras soluções.

Diante desse resultado, pode-se destacar a importância na determinação desse composto em efluentes e amostras ambientais, pois, além de apresentar alta toxicidade, é um poluente persistente no ambiente.

4.1.3 Simulação computacional

A partir da simulação computacional, a interação do corante BR9 com os 20 monômeros comerciais mais empregados para a síntese de MIP (Tabela 1) foi analisada. Como resultado, obtém-se um gráfico que apresenta a energia de ligação entre o corante e cada monômero (Figura 17).

Figura 17 - Média dos resultados das simulações realizadas para avaliar a energia da interação entre três diferentes confôrmeros do corante BR9 com os 20 monômeros propostos da Tabela 1.



Fonte: autor do trabalho.

Os monômeros acrilonitrila (MP8) e 1-vinilimidazol (MP16) foram os que apresentam maior energia de ligação, ou seja, são os monômeros com melhor interação com o analito.

Enquanto que os monômeros estireno (MP15), acroleína (MP6), 2-hidroxietil-metacrilato (MP20) e ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propano-sulfônico (MP19) são os que apresentam menor energia de ligação, respectivamente.

Para a etapa de síntese, foram analisados três diferentes monômeros: acrilonitrila (MP8), que mostrou alta interação com o analito; ácido metacrílico (MP12) com interação intermediária; e AMPSA (MP19) com baixa energia de ligação com o corante.

4.1.4 Remoção da molécula do corante BR9 da estrutura do MIP

O primeiro MIP sintetizado e analisado neste trabalho foi o descrito no item 3.4.1.1, no qual foi empregada a acrilonitrila como monômero funcional e a proporção entre MM:MF:ME igual a 1:500:2000.

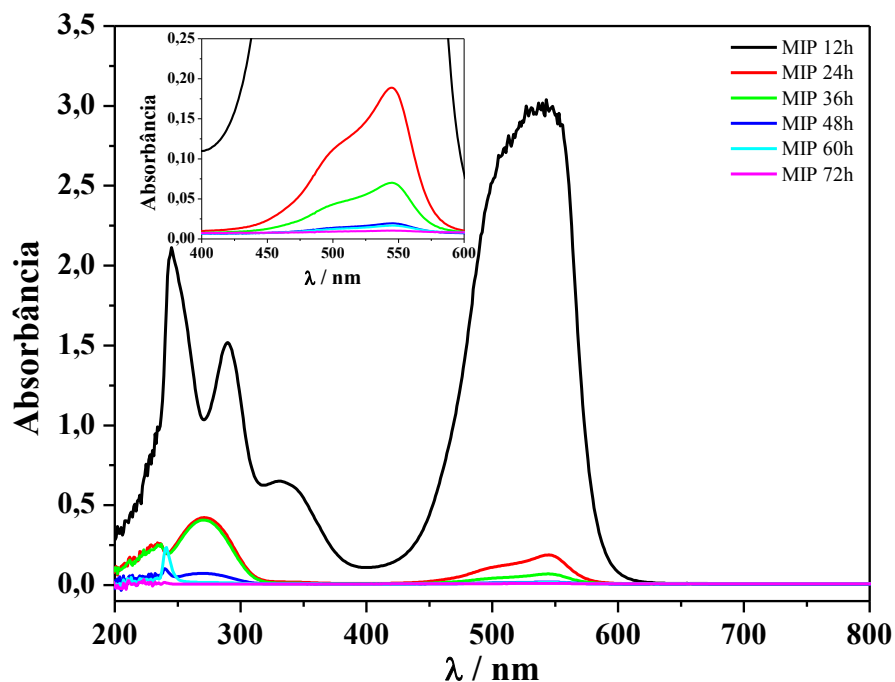
Após a síntese do MIP, uma etapa importante a ser realizada é a remoção da molécula molde das cavidades do polímero impresso. Desta forma, possibilita a entrada do analito de interesse na cavidade, propiciando a sua religação para posterior análise.

Por essa razão, a remoção do corante BR9 das cavidades do MIP foi monitorada por meio de medidas espectrofotométricas na região UV-Vis. Para isso, a solução de lavagem, composta por uma mistura de metanol/ácido acético (7:3) empregada no sistema soxhlet com o intuito de remover o analito, foi monitorada a cada troca de solução que ocorria de 12 em 12 h. Os espectros na região UV-Vis das soluções de lavagens no intervalo de 12 a 72 h são apresentados na Figura 18.

A primeira lavagem (12 h) apresentou uma grande remoção do corante, porém o MIP ainda apresenta traços do analito até 60 h. Sendo assim adotou-se três dias de lavagem do MIP, ou seja, 72 h.

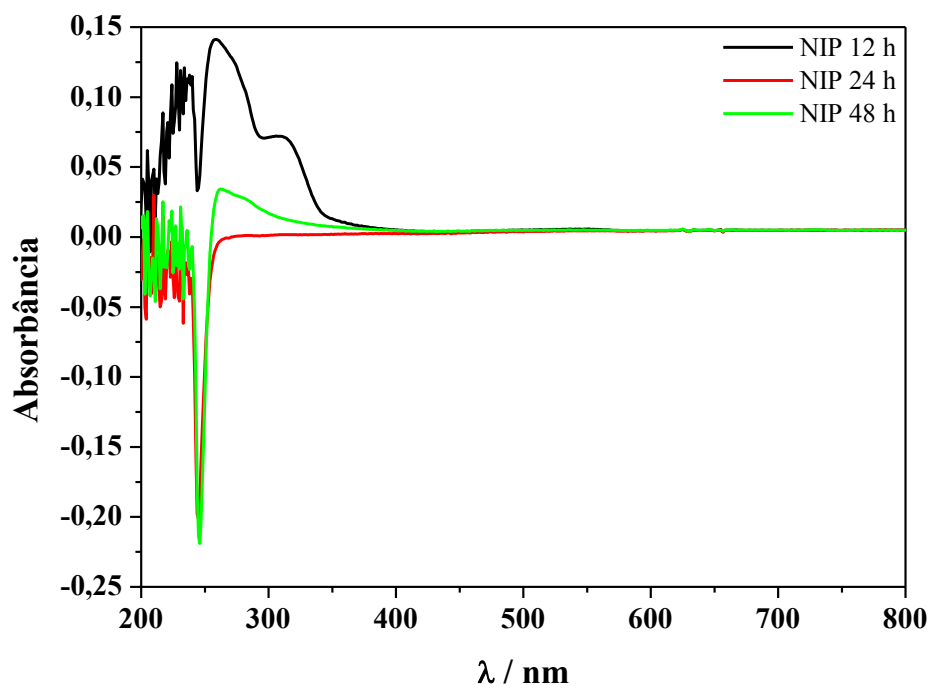
A lavagem realizada para o MIP foi executada em paralelo para o NIP. Conforme mostrado na Figura 19, a eliminação dos compostos em excesso empregados para a síntese do polímero foi rápida, pois os espectros das soluções de lavagem não apresentaram mais os sinais referentes aos reagentes após 24 h. No entanto, para garantir que todo o excesso de reagente fosse removido, optou-se por realizar a lavagem durante 48 h.

Figura 18 - Espectros de absorção na região UV-Vis das soluções de lavagem do MIP sintetizado com o monômero acrilonitrila em diferentes tempos de lavagem. *Inset*: Ampliação dos espectros de absorção na região do visível entre 400 e 600 nm.



Fonte: autor do trabalho.

Figura 19 - Espectro de absorção na região UV-Vis das soluções de lavagem do NIP sintetizado com o monômero acrilonitrila em diferentes tempos de lavagem.



Fonte: autor do trabalho.

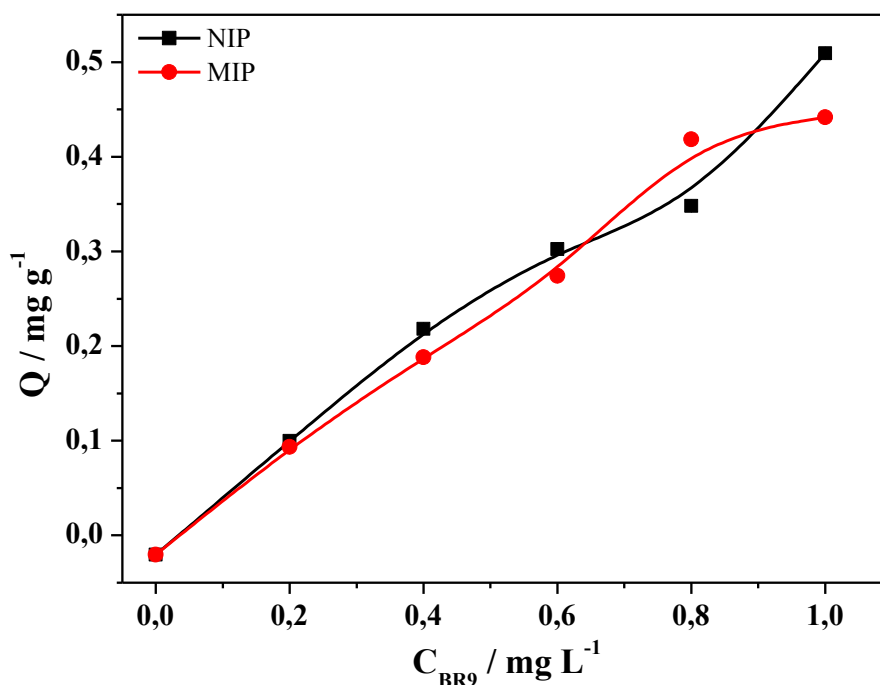
4.1.5 Isotermas de adsorção do corante BR9 aos polímeros

A avaliação do desempenho do MIP foi realizada a partir de isotermas de adsorção, conforme relatado por Valero-Navarro *et al.* (99).

A isoterma de adsorção representa a quantidade de um determinado soluto ligado a um adsorvente (Q), em função da concentração de equilíbrio do soluto. Para se construir uma isoterma de adsorção coloca-se em contato a solução contendo o componente a ser adsorvido em diferentes concentrações iniciais e em temperatura constante até o equilíbrio (tempo que também é avaliado), determinando-se assim a quantidade de material adsorvido (101). O valor de Q para a construção da curva consistiu na quantidade em massa do analito retido por massa de adsorvente (MIP ou NIP) empregado (Equação 1).

Inicialmente, foi construída uma curva de isoterma para concentrações mais baixas do corante BR9, de 0 a 1,0 mg L⁻¹. Como pode ser observado na Figura 20, nesse intervalo de concentração houve pouca diferença na religação do analito pelo MIP e NIP. Por essa razão, optou-se por aumentar o intervalo de concentração do analito para melhor avaliação do desempenho do MIP sintetizado.

Figura 20 - Isoterma de adsorção do corante BR9 para o NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL e tempo de interação de 12 h.

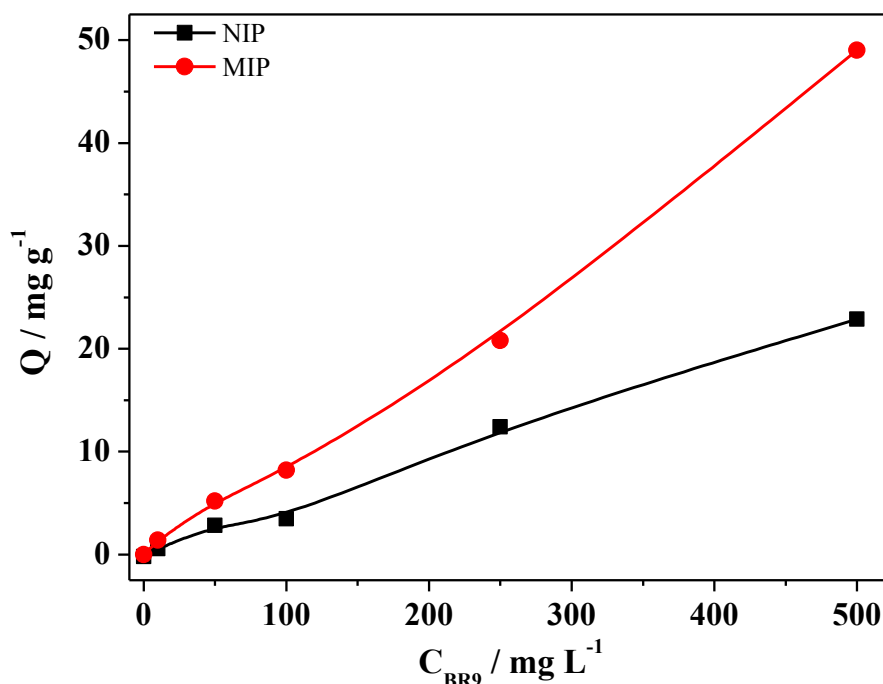


Fonte: autor do trabalho.

Quando a curva de isoterma foi construída em intervalos de concentrações mais elevadas do corante BR9 (de 0 a 500 mg L⁻¹) pode-se observar que quanto maior a

concentração do analito melhor é o desempenho do MIP frente ao NIP (Figura 21). O fato da religação do corante ao MIP ser muito maior que ao NIP indica que as cavidades formadas no MIP conferiram uma alta afinidade e um reconhecimento específico do analito (103) havendo uma retenção de até 2,5 vezes maior para o MIP, na maior concentração avaliada.

Figura 21 - Isoterma de adsorção do corante BR9 para o NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL e tempo de interação de 12 h.



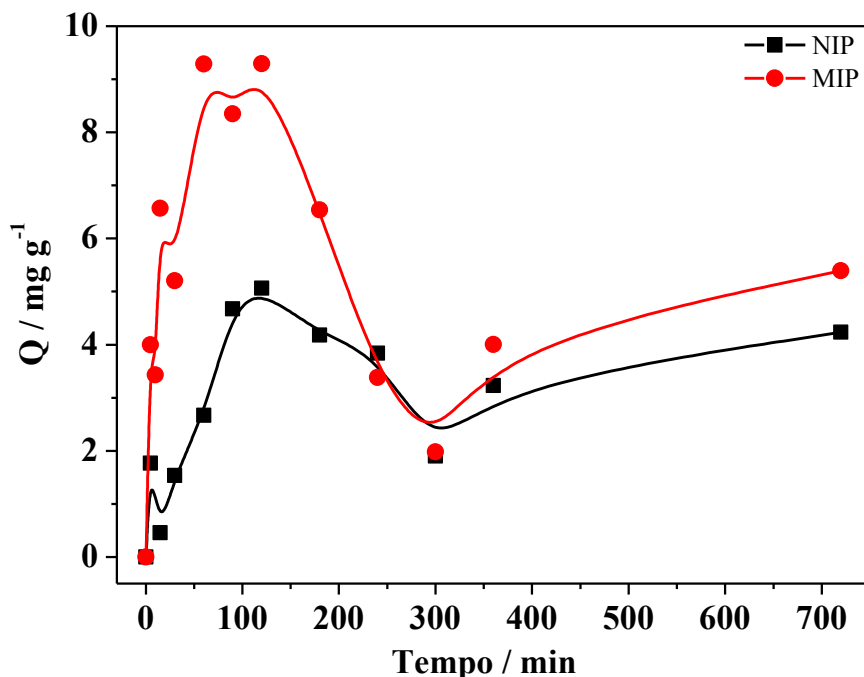
Fonte: autor do trabalho.

4.1.6 Otimização da interação entre o corante BR9 e o MIP

Com o intuito de maximizar a retenção do corante BR9 ao MIP, foram avaliadas diferentes condições reacionais, tais como tempo de interação para atingir o equilíbrio, pH da solução de corante, tipo de solução de extração e de eluição e massa de adsorvente. Em todas as etapas de otimização, as medidas foram realizadas em espectrofotômetro UV/Vis.

O primeiro parâmetro estudado foi o tempo de interação entre o analito e o polímero (tempo de equilíbrio) com um intervalo entre 5 e 720 min e concentração do corante BR9 fixada em 100 mg L^{-1} , conforme apresentado na Figura 22.

Figura 22. Estudo do tempo de interação do corante BR9 ao NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL e concentração do corante BR9 de 100 mg L⁻¹.



Fonte: autor do trabalho.

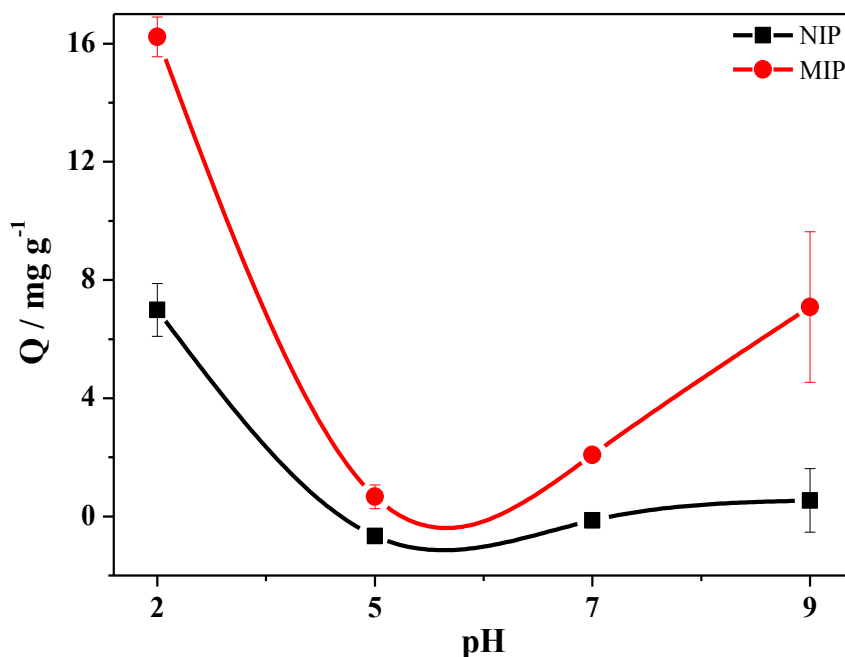
A maior retenção do corante pelo MIP ocorreu entre 60 e 120 min. Após esse tempo, observa-se a dessorção do composto até os 300 min de interação, quando o corante volta a se adsorver ao polímero. No entanto, mesmo o analito se adsorvendo novamente após os 300 min de interação, a quantidade de corante retido é inferior ao tempo de 60 min. Adicionalmente, 60 min houve a maior diferença de retenção entre o MIP e o NIP.

Por essa razão, o tempo de interação do corante ao polímero adotado nas etapas subsequentes foi de 60 min, ressaltando que durante esse período a solução fica sob constante agitação.

Outra condição analisada foi o pH da solução aquosa para preparar o corante. Conforme mostrado na Figura 23, os valores de pH 2 e 9 foram os que apresentaram maior retenção pelo MIP e melhor diferença em relação à religação no NIP.

Entretanto, analisando os resultados obtidos, o pH 2 apresentou melhor retenção que o pH 9, provavelmente devido ao favorecimento da ligação do analito na forma ácida ao monômero acrilonitrila que possui caráter levemente básico. Além disto, a análise em meio ácido apresentou uma maior reprodutibilidade das medidas obtidas. Por essa razão, nas etapas subsequentes a solução do corante foi preparada em pH 2.

Figura 23 - Estudo de pH para a interação do corante BR9 com o NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL, tempo de interação de 60 min e concentração do corante BR9 de 100 mg L^{-1} , $n = 3$.

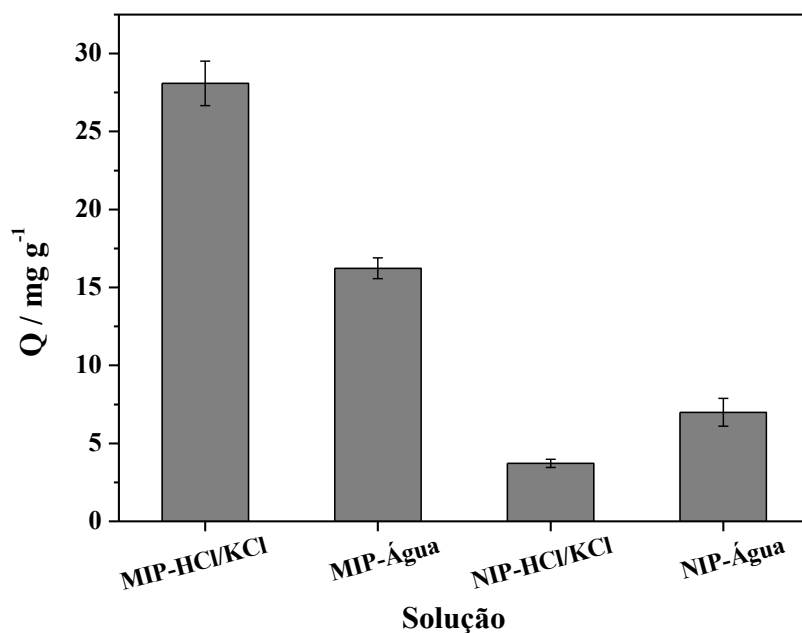


Fonte: autor do trabalho.

Após a definição do pH a ser empregado para preparação do corante, foi avaliado o tipo de solução (em pH 2,0) na qual o corante BR9 devia ser diluído. Para isso, a retenção do analito ao MIP foi realizada diluindo o corante em duas diferentes soluções: uma aquosa com ajuste de pH usando HCl e outra de HCl-KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, que atua como uma solução tampão para manter o pH da solução constante.

Como apresentado na Figura 24, o corante, quando diluído na solução HCl-KCl, apresentou um aumento significativo na quantidade de analito retido pelo MIP e uma maior diferença entre a religação do corante ao MIP e NIP quando comparado à diluição em água.

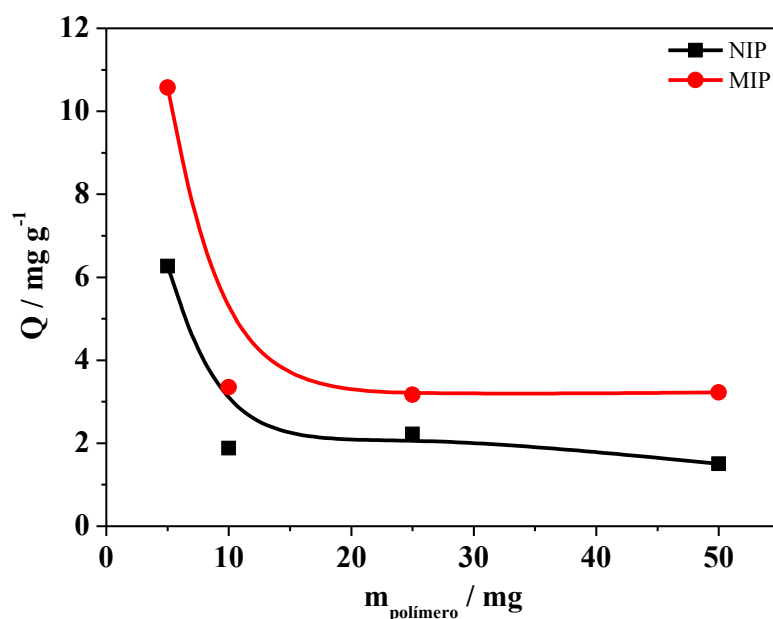
Figura 24 - Estudo de solução para a interação dos adsorventes com o corante BR9 diluído em água ou em solução HCl-KCl 0,05 mol L⁻¹. Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL, pH = 2, tempo de interação de 60 min e concentração do corante BR9 de 100 mg L⁻¹.



Fonte: autor do trabalho.

A última condição estudada foi a quantidade de massa do adsorvente. Para isso, foram empregados 5, 10, 25 e 50 mg de NIP ou MIP para reter o corante BR9 (Figura 25).

Figura 25 - Estudo da massa de adsorvente para a religação do corante BR9 ao NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: volume de 3 mL, tempo de interação de 60 min e concentração do corante BR9 de 100 mg L⁻¹ em solução tampão HCl-KCl 0,05 mol L⁻¹ a pH 2,0.



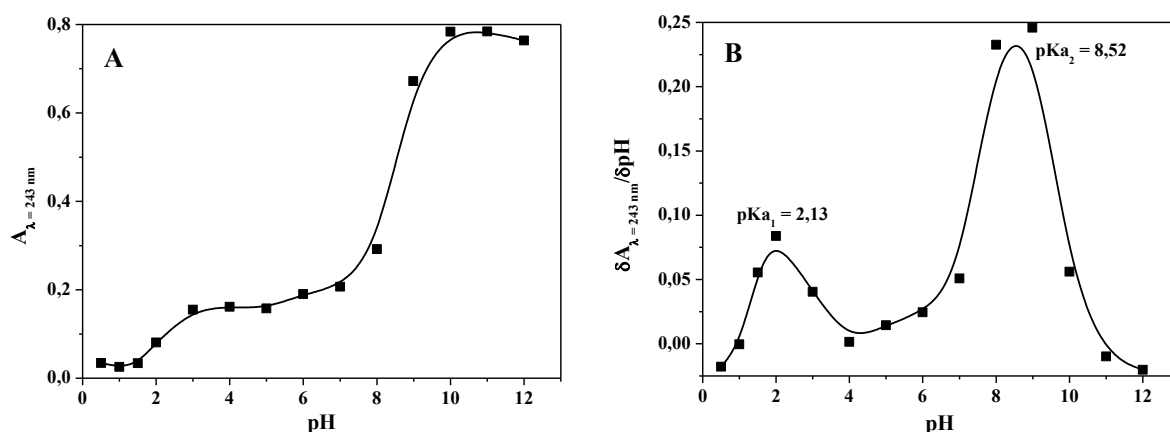
Fonte: autor do trabalho.

Empregando-se 5 mg de material adsorvente obteve-se uma retenção aproximadamente três vezes maior que utilizando uma maior quantidade de polímero. Por essa razão, definiu-se o uso de 5 mg de MIP ou NIP para os estudos futuros.

4.1.7 Cálculo do pK_a do corante BR9

Para explicar os resultados da interferência do pH da solução do corante BR9 na religação ao MIP (Figura 23), calculou-se o valor de pK_a do corante BR9. Para isso, foram preparadas soluções aquosas do corante em diferentes valores de pH (de 0,5 a 12), que foram submetidas a medidas espectrofotométricas, comparando a absorbância em dois diferentes comprimento de ondas, 243 (Figura 26) e 542 nm. Esses comprimentos de onda foram escolhidos devido à presença de bandas nessa região, para as formas ácida e básica do corante.

Figura 26 - (A) Curva da absorbância no comprimento de onda de 243 nm em função do pH. (B) Primeira derivada obtida da curva da Figura 13A.

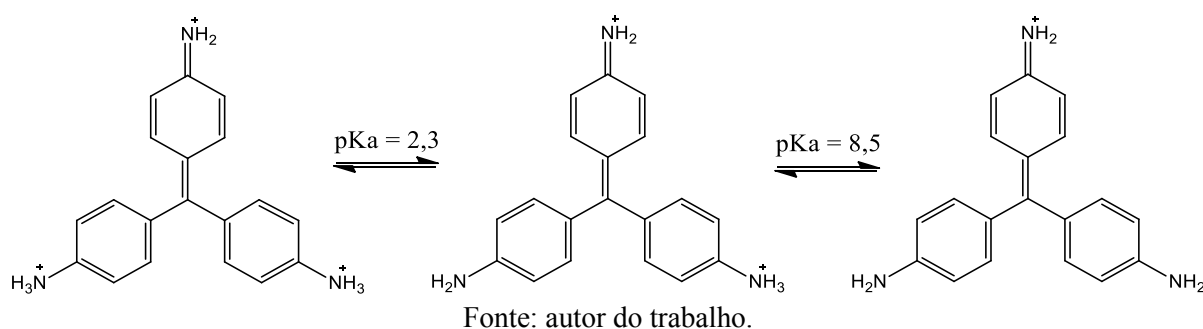


Fonte: autor do trabalho.

Para o cálculo do pK_a , a curva da absorbância em função do pH (Figura 26A) foi submetida à primeira derivada (Figura 26B), e os pontos máximos foram assumidos como sendo os valores experimentais do pK_a do corante. No comprimento de onda de 243 nm observam-se claramente dois valores para o pK_a do corante, que correspondem a 2,13 e 8,52. Enquanto que no comprimento de onda de 542 nm, também houve a ocorrência de dois valores de pK_a correspondentes a 2,38 e 8,56. Como os valores em ambos os comprimentos de onda analisados foram próximos, pode-se calcular que o corante BR9 apresenta dois valores médios de pK_a em 2,3 e 8,5.

A Figura 27 esquematiza a proposta das estruturas da molécula BR9 conforme se altera o pH da solução do corante.

Figura 27 - Esquema das estruturas do corante BR9 em função do pK_a .



Em soluções com valores de pH inferiores a 2,3, todas as aminas do corante BR9 estão protonadas. No intervalo de pH entre 2,3 e 8,5, uma das aminas é desprotonada, ficando com duas cargas positivas. Já, quando o pH apresenta valor superior a 8,5, outra amina é desprotonada, desta forma o corante apresenta somente uma carga positiva na amina ligada ao radical fenil por uma dupla ligação.

O fato do estudo de pH apresentado na Figura 23 resultar nos valores de pH 2 e 9 como os que favorecem a interação do corante MIP evidencia que a interação entre o analito e o monômero funcional pode ser eletrostática, uma vez que independente do valor de pH, a molécula apresenta-se carregada.

4.1.8 Isoterma de adsorção do corante BR9 aos polímeros com as condições otimizadas

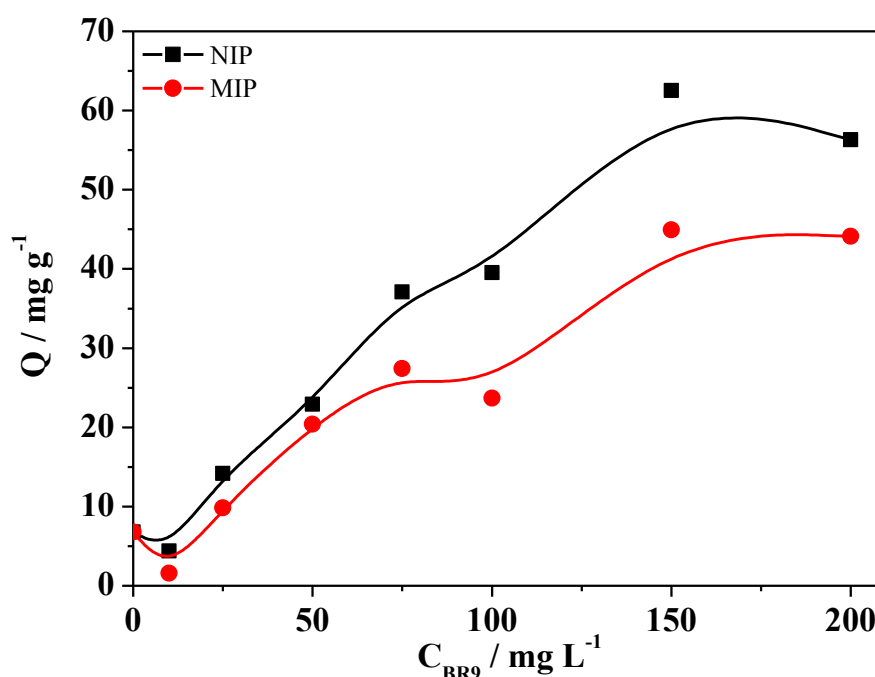
Após definida as melhores condições para aumentar a interação entre o corante BR9 e o MIP sintetizado com o monômero acrilonitrila (5 mg de polímero, volume de 3 mL da solução do analito diluído em solução HCl-KCl 0,05 mol L⁻¹ a pH 2,0 e tempo de interação de 60 min) foi realizado um novo estudo empregando a curva de isoterma (Figura 28). No entanto, o resultado não foi o esperado, uma vez que a retenção do MIP foi inferior a do NIP.

Como os resultados deste polímero não foram satisfatórios, mesmo depois de otimizar as condições para a ligação do corante ao MIP, optou-se pelo estudo de diferentes sínteses de MIP para o corante BR9.

Provavelmente, a principal razão para este MIP ter apresentado resultados insatisfatórios é devido à elevada proporção dos monômeros funcional e estrutural frente à quantidade da molécula molde, ou seja, foi utilizada a razão molar de 1:500:2000 de MM:MF:ME, respectivamente. Nestas condições, a quantidade de MM frente aos demais reagentes é muito baixa, resultando em um MIP com poucas cavidades seletivas para possibilitar a religação do analito. Adicionalmente, foi empregada uma alta concentração MF, desta forma há um excesso de grupos funcionais na estrutura do polímero. Com isso, uma

grande quantidade de moléculas do corante pode ligar-se inespecificamente a esses grupos funcionais presentes na estrutura polimérica ao invés de religar-se às cavidades, não havendo, desta forma, diferença significativa entre as estruturas morfológicas do NIP e MIP.

Figura 28 - Isoterma de adsorção do corante BR9 para o NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 5 mg de polímero, volume de 3 mL da solução do analito diluído em solução HCl-KCl 0,05 mol L⁻¹ a pH 2,0 e tempo de interação de 60 min.



Fonte: autor do trabalho.

4.1.9 Síntese do MIP para BR9 empregando MAA como MF

Como a síntese empregando a acrilonitrila não apresentou bons resultados foram propostas novas sínteses com diferentes monômeros funcionais e proporções entre os reagentes.

Foi realizada uma nova polimerização utilizando o ácido metacrílico como MF, conforme descrito na seção 3.4.1.2. Entretanto os polímeros resultantes não apresentaram bom desempenho, uma vez que mesmo após diversas lavagens, a coloração rosa do MIP ainda estava muito intensa, evidenciando que a molécula molde não estava sendo removida facilmente, mesmo com troca de solventes como: acetona, etanol e soluções ácidas. E, ainda, houve grande perda de material polimérico durante a etapa de lavagem por lixiviação devido à baixa sedimentação do polímero durante a centrifugação da solução de lavagem e remoção do corante. Por essa razão, a eficiência desse polímero não foi avaliada e novas sínteses foram propostas e avaliadas.

As sínteses descritas nas seções 3.4.1.3 e 3.4.1.4 resultaram em polímeros com melhor sedimentação após a centrifugação, o que possibilitou a lavagem dos MIP para a remoção da molécula molde. A eficiência da ligação do corante ao MIP é avaliada e discutida nos tópicos subsequentes.

4.1.10 Avaliação do desempenho dos MIP sintetizados com o AMPSA como MF e BR9 como MM

4.1.10.1 Análise de ligação com o MIP 1:3:20 (BR9:AMPSA:EGDMA) pelo método bulk

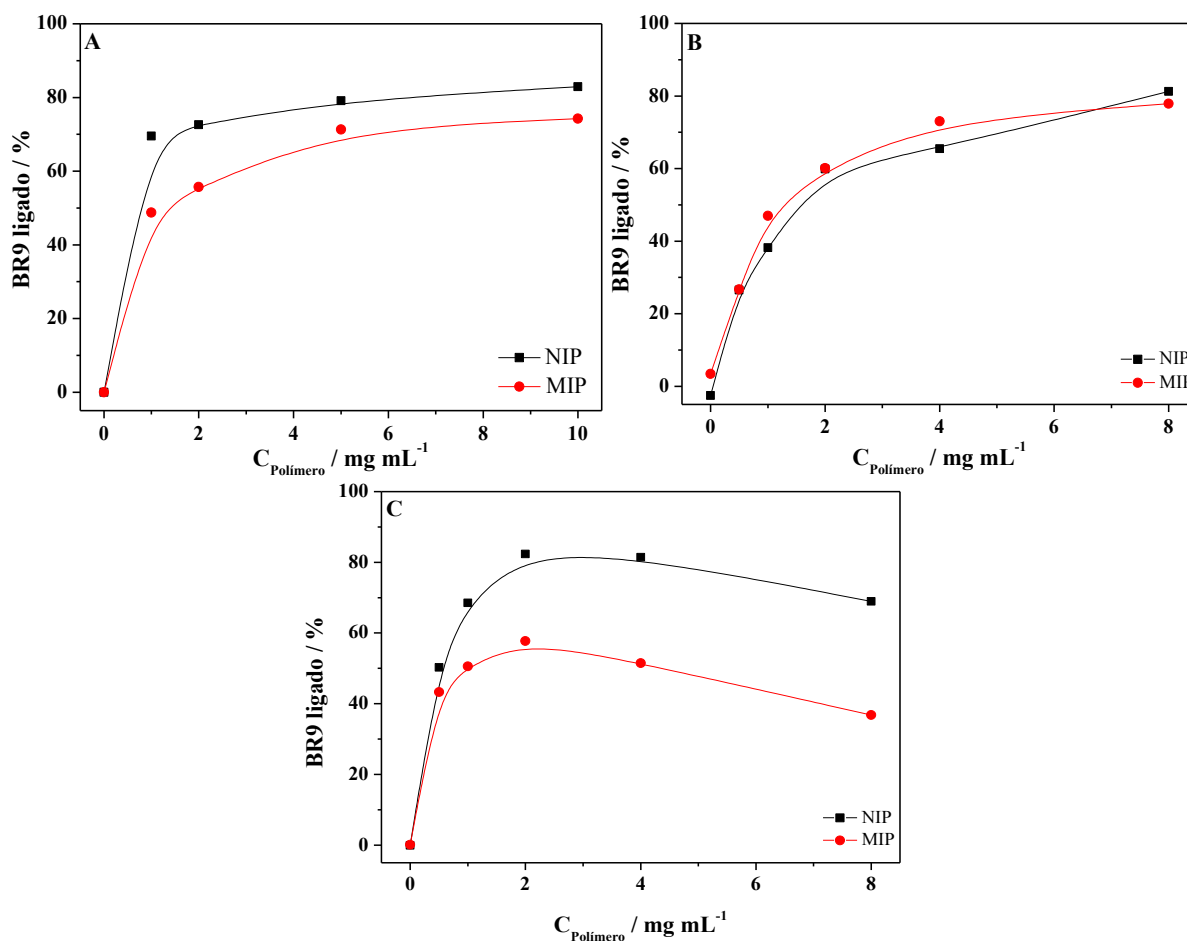
A avaliação do desempenho deste polímero não foi realizada por meio de curvas de isotermas como descrito até então, mas utilizando estudos de religação, nos quais a concentração do corante BR9 foi fixada em $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e variou-se a quantidade de polímero presente no meio reacional.

A ligação do corante BR9 ao MIP 1:3:20 foi analisada, inicialmente, em solução aquosa (Figura 29A). As análises apresentaram alta porcentagem de corante ligado, porém com baixa especificidade entre MIP e NIP, por essa razão outros solventes foram analisados.

O solvente escolhido foi uma solução de amônia 1% (v/v), objetivando o bloqueio dos grupos ativos livres presentes na estrutura polimérica com a molécula de amônia, propiciando assim a ligação do corante especificamente à cavidade do MIP. Em outras palavras, a função da molécula de amônia é competir com o corante pelos grupos funcionais livres do polímero para evitar ligações não específicas (104).

Conforme apresentado na Figura 29B, o resultado obtido pelo MIP ainda não foi satisfatório, uma vez que as porcentagens de religação do NIP e MIP foram muito semelhantes. Como poderia haver excesso de moléculas de amônia, a ligação do analito aos polímeros foi analisada em solução de amônia 0,05% (v/v). No entanto, o NIP apresentou maior porcentagem de ligação do analito que o MIP (Figura 29C), indicando que a síntese do polímero usando a proporção 1:3:20 entre os reagentes não era indicada para a continuidade deste trabalho.

Figura 29 - Análises de ligação entre o corante BR9 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o polímero 1:3:20 em (A) água, (B) $\text{NH}_{3(\text{aq.})}$ 1,0% (v/v) e (C) $\text{NH}_{3(\text{aq.})}$ 0,05% (v/v).



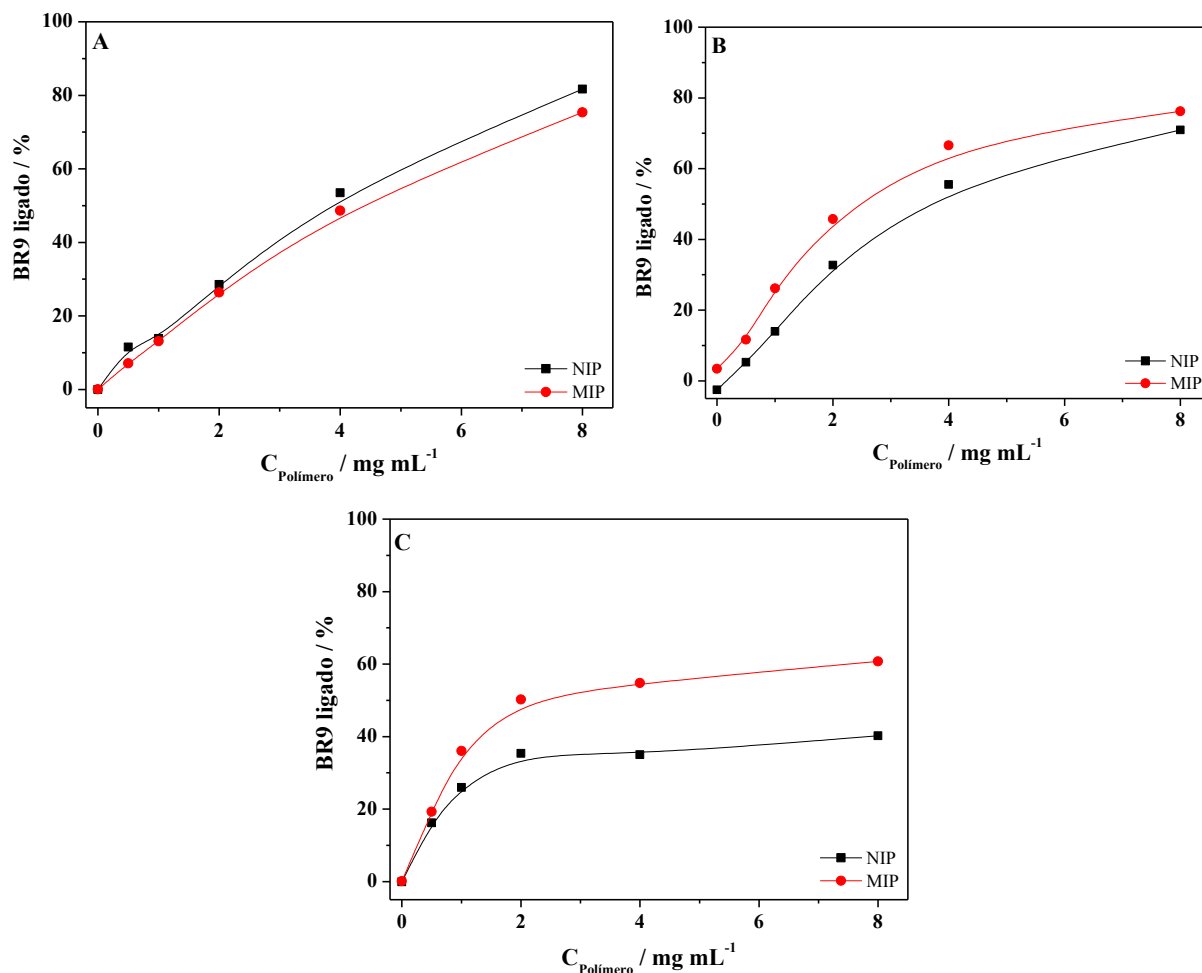
Fonte: autor do trabalho.

4.1.10.2 Análise de ligação com o MIP 1:3:200 (BR9:AMPSA:EGDMA) pelo método bulk

Zhang *et al.* (105) e Yilmaz *et al.* (106) reportaram que o aumento da quantidade de monômero estrutural na síntese de polímeros impressos melhorou o desempenho de ligação do analito ao MIP. Diante disso, foi avaliada a síntese do MIP para o corante BR9 utilizando a razão 1:3:200 (MM:MF:ME).

A ligação do corante BR9 ao MIP 1:3:200 foi analisada, inicialmente, em água e, como mostrado na Figura 30A, os polímeros apresentaram alta porcentagem de ligação, porém baixa especificidade. Além disso, o NIP apresentou ligação ligeiramente maior que o MIP, devido à interação do analito aos grupos reativos livres em excesso na superfície do polímero, e não às cavidades específicas do MIP.

Figura 30 - Análise da ligação do corante BR9 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero 1:3:200 em (A) água, (B) NH_3 (aq.) 1,0% (v/v) e (C) NH_3 (aq.) 0,05% (v/v).



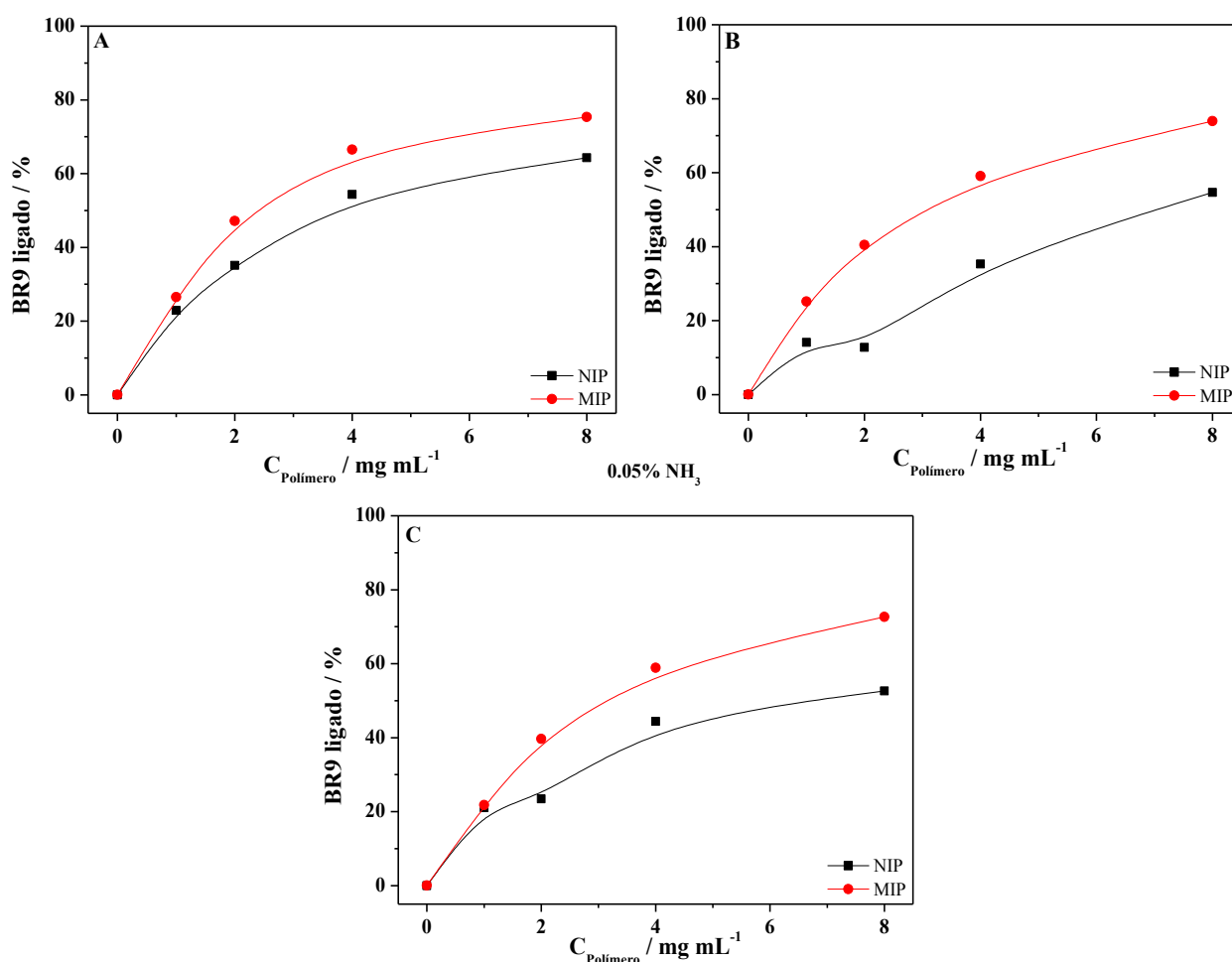
Fonte: autor do trabalho.

Em solução de amônia 1% (Figura 30B), o polímero apresentou uma pequena diferença entre o NIP e MIP, mostrando que a amônia ligou-se a alguns grupos reativos livres em excesso, favorecendo a ligação do analito às cavidades específicas do MIP. Entretanto, a diferença entre MIP e NIP não foi muito significativa, provavelmente devido à alta concentração de NH_3 , que pode ter se ligado também a alguns grupos funcionais no interior das cavidades específicas.

Por essa razão, uma menor concentração de amônia (0,05%) foi avaliada, como mostrado na Figura 30C. Nesta solução, o corante teve uma boa porcentagem de religação aos polímeros e uma boa diferença, de aproximadamente 30%, entre MIP e NIP. Desta forma, é possível afirmar que o corante BR9 ligou-se especificamente às cavidades moleculares do MIP e as moléculas de amônia bloquearam os grupos reativos presentes na estrutura do polímero, evitando ligações inespecíficas.

Diante destes resultados, concentrações mais baixas de NH_3 foram analisadas para verificar se haveria o favorecimento da ligação do analito às cavidades específicas do MIP. Como observado na Figura 31, os polímeros apresentaram boa porcentagem de ligação nas três concentrações estudadas, sendo que as concentrações de 0,025 e 0,05% (v/v) (Figura 31B e Figura 31C) apresentaram resultados muito semelhantes e com melhor diferença entre NIP e MIP que a concentração de 0,01% (Figura 31A). Portanto, nas etapas subsequentes, optou-se por utilizar a concentração de 0,05% de NH_3 .

Figura 31 - Análise de ligação do corante BR9 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero 1:3:200 em (A) 0,01%, (B) 0,025% e (C) 0,05% de NH_3 (aq.).



Fonte: autor do trabalho.

4.1.10.3 Análise de ligação com o MIP sintetizado pelo método de precipitação

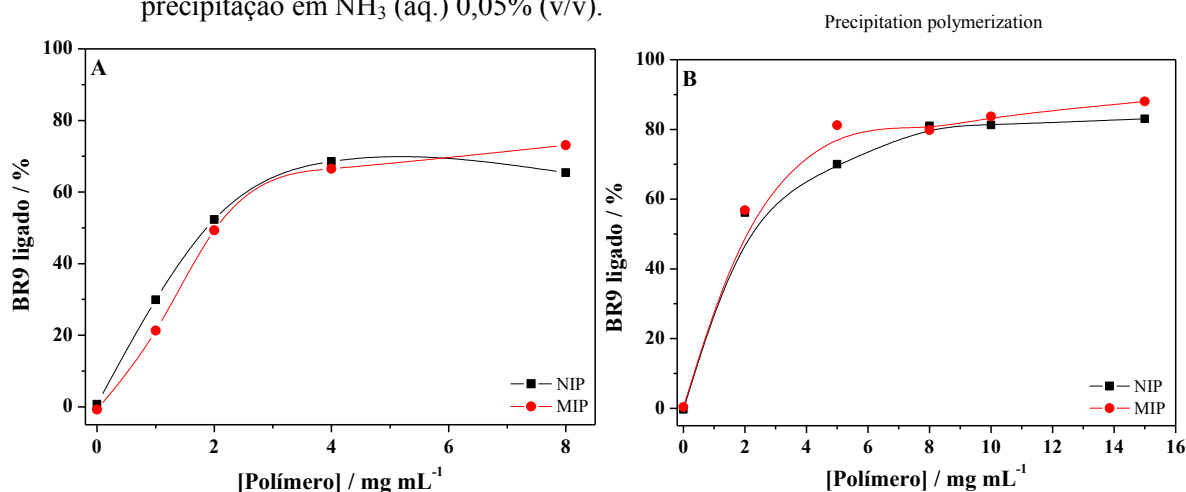
Esse método de polimerização tem como principal característica o uso de uma maior quantidade de solvente em relação ao método *bulk*. Com isso, uma das vantagens desse tipo de polimerização é a formação de partículas poliméricas esféricas menores e uniformes (107). Com a formação de partículas menores e mais uniformes, a imobilização deste MIP sobre a

fibra óptica para o desenvolvimento de sensores biomiméticos poderia apresentar respostas superiores e mais reprodutíveis frente ao MIP sintetizado pelo método em *bulk*.

A ligação do corante BR9 a esse polímero foi analisada, inicialmente, utilizando uma menor concentração polimérica (de 0 a 8 mg mL⁻¹) em solução de amônia 0,05% (v/v). Conforme observado na Figura 32A, houve uma alta porcentagem de ligação do corante tanto ao MIP como ao NIP, apresentando uma baixa especificidade entre esses polímeros quando empregada baixa concentração dos polímeros. No entanto, na maior concentração estudada (8 mg mL⁻¹), nota-se uma pequena diferença entre o polímero impresso e o não impresso.

Sendo assim, aumentou-se o intervalo de concentração de polímero a ser analisado, entre 0 e 15 mg mL⁻¹ (Figura 32B). Contudo, observou-se alta ligação do corante para ambos os polímeros e sem diferenciação significativa entre eles, o que mostra que não existe ligação preferencialmente do corante às cavidades específicas do MIP.

Figura 32 - Análise de ligação do corante BR9 10 µmol L⁻¹ ao polímero sintetizado pelo método da precipitação em NH₃ (aq.) 0,05% (v/v).



Fonte: autor do trabalho.

Diante dos resultados insatisfatórios que o polímero sintetizado pelo método da precipitação apresentou, seu uso foi descartado para a realização de novos experimentos.

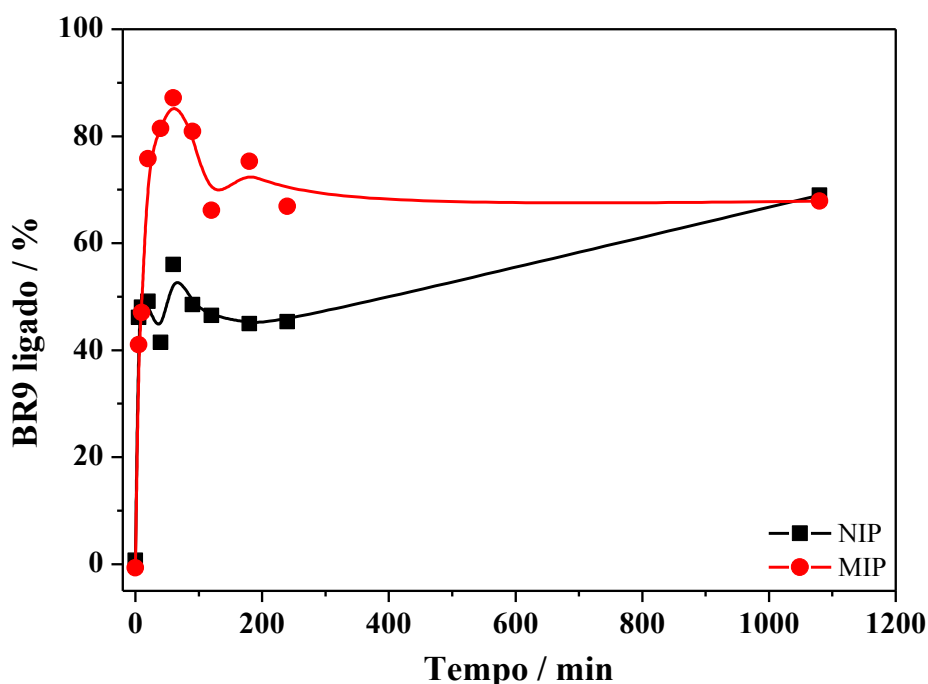
4.1.10.4 Tempo de interação entre o corante BR9 e polímero 1:3:200 (BR9:AMPSA:EGDMA) pelo método bulk

O tempo de interação entre o analito e o polímero 1:3:200 (BR9:AMPSA:EGDMA) foi avaliado no intervalo entre 0 e 1080 min, com concentração do corante BR9 fixada em 10 µmol L⁻¹ e concentração da suspensão polimérica de 4,0 mg mL⁻¹.

Como mostrado na Figura 33, a diferenciação entre MIP e NIP iniciou a partir de 20 min, e o percentual de ligação manteve-se constante a partir de 120 min e o máximo de corante ligado ao MIP ocorreu em 60 min.

O tempo de interação empregado nos experimentos anteriores foi de 240 min, no qual o sistema já estava em equilíbrio e apresentou uma diferença satisfatória entre a porcentagem de religação do corante ao NIP e MIP. Por essa razão, nas etapas posteriores, este foi o tempo empregado, uma vez que a estabilidade da ligação é maior do que em 60 min.

Figura 33 - Análise do tempo de interação entre o corante BR9 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $4,0 \text{ mg mL}^{-1}$ de polímero em $\text{NH}_3(\text{aq.})$ 0,05% (v/v).

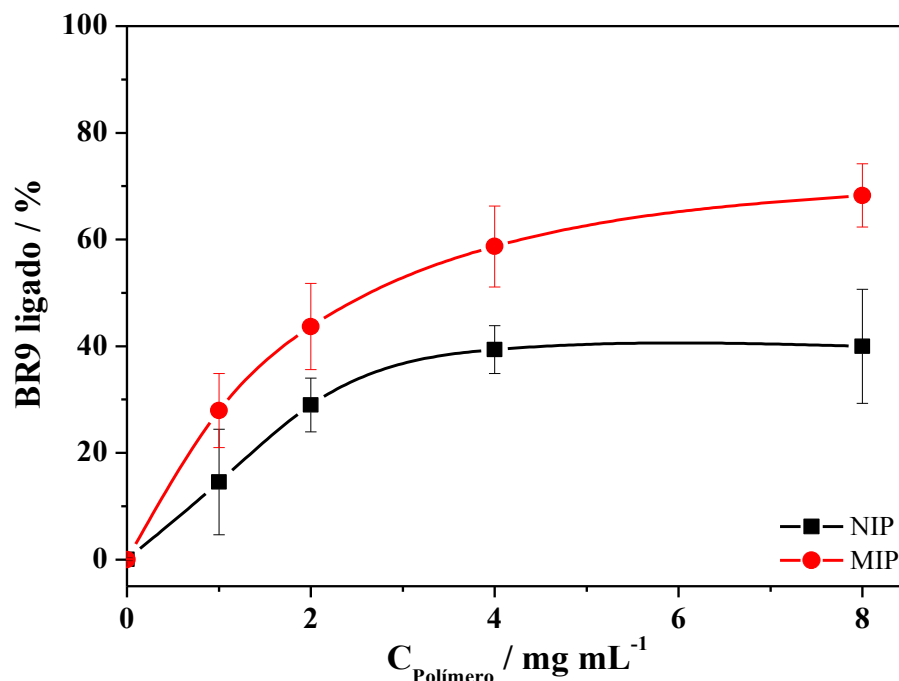


Fonte: autor do trabalho.

4.1.10.5 Reprodutibilidade entre diferentes lotes do polímero 1:3:200 (BR9:AMPSA:EGDMA) pelo método bulk

Um parâmetro importante a ser avaliado durante a síntese de MIP é a reprodutibilidade apresentada entre diferentes lotes de polímeros. Por isso, duas novas sínteses foram realizadas e a ligação do corante BR9 aos polímeros foi analisada e comparada. Como mostrado na Figura 34, o resultado apresentado entre os três diferentes lotes do polímero foi bom, uma vez que se obteve um baixo desvio padrão entre as medidas, alta porcentagem de religação do corante BR9 ao MIP (aproximadamente 70%) e uma significativa diferença entre NIP e MIP (próximo a 30%).

Figura 34 - Análise de ligação do corante BR9 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ para diferentes lotes de polímeros 1:3:200 em NH_3 (aq.) 0,05% (v/v).



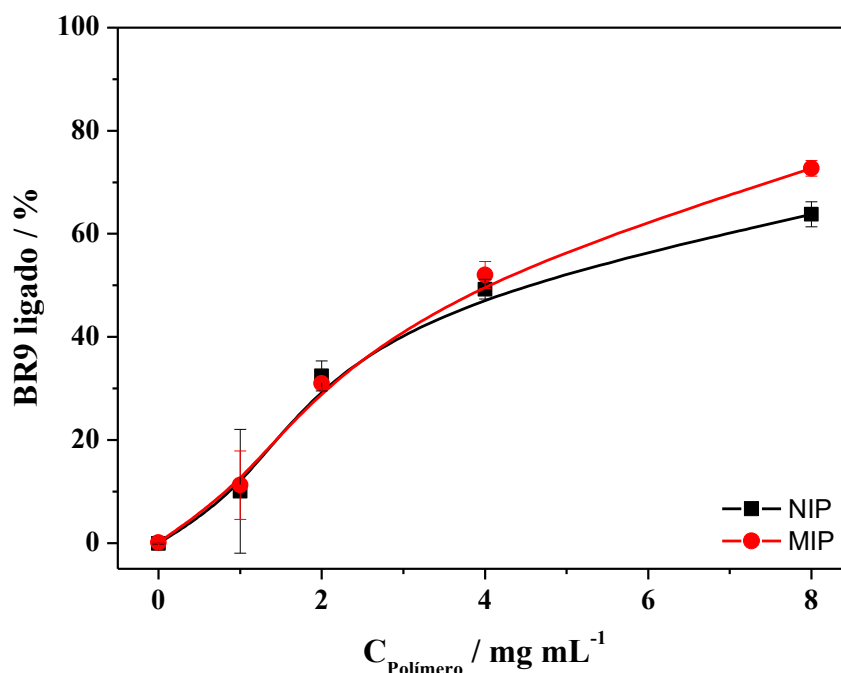
Fonte: autor do trabalho.

4.1.11 Avaliação do desempenho do MIP para o corante BR9 sintetizado com o APM como MM e AMPSA como MF

Quando a síntese do MIP é realizada usando o corante BR9 como molécula molde, o polímero resultante, mesmo após diversas lavagens para eliminação da MM da sua estrutura, ainda apresenta uma coloração rosada, já que não é possível a remoção completa do composto da estrutura polimérica. Por isso, foi avaliado um MIP sintetizado empregando um composto com estrutura análoga ao corante, o 4,4'-diaminodifenilmetano (APM). Esse composto não apresenta cor, então consequentemente o polímero resultante é branco. Um possível problema com a coloração do polímero resultante é que ao imobilizar o polímero à superfície da fibra óptica pode apresentar alguma influência durante a análise.

Para avaliar a eficiência desse novo polímero, a ligação do corante BR9 ao MIP foi realizada nas melhores condições descritas anteriormente, isto é, em solução de amônia 0,05% (v/v). No entanto, como mostrado na Figura 35, não foram obtidos resultados satisfatórios, pois a porcentagem de religação foi elevada, mas com baixa diferença entre NIP e MIP (aproximadamente 9%).

Figura 35 - Análises de ligação do corante BR9 na concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero sintetizado com o APM como molécula molde em $\text{NH}_3(\text{aq.})$ 0,05% (n=3).



Fonte: autor do trabalho.

Uma vez que o polímero sintetizado com o APM como molécula molde não apresentou bom desempenho, ele foi descartado das etapas subsequentes do trabalho.

A baixa especificidade desse polímero, provavelmente deve-se ao tamanho das cavidades específica do polímero, ou seja, como o composto empregado como molécula molde, o APM, apresenta uma estrutura menor que o corante BR9, provavelmente o analito não conseguiu se alojar no interior das cavidades.

4.1.12 Avaliação do desempenho do MIP empregando ACR como MF na proporção 1:3:200 (BR9:ACR:EGDMA)

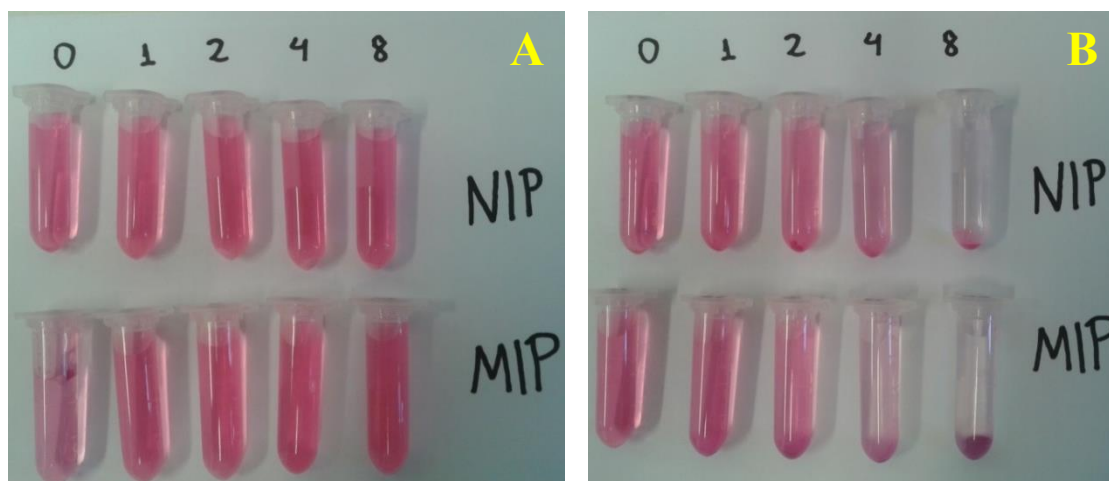
Uma vez que a proporção entre os reagentes para a síntese do MIP foi otimizada empregando o monômero AMPSA, foi avaliada a síntese de um MIP nestas proporções (1:3:200), no entanto utilizando a acrilonitrila como monômero funcional.

Novas análises com a acrilonitrila foram realizadas pelo fato deste monômero ter apresentado maior energia de ligação com o analito segundo a simulação computacional apresentada na seção 4.1.3.

Para avaliar o desempenho deste MIP, foi realizado um estudo de ligação com a variação da quantidade de polímero e fixando-se a concentração do corante BR9. Contudo, após o contato do corante com os polímeros por 4 h e centrifugar os tubos eppendorfs®

contendo a mistura, foi possível observar claramente que o MIP sintetizado com acrilonitrila não reteve o corante, pois as soluções continuaram com a forte coloração rosa, conforme mostrado na Figura 36A. Já, quando utilizado o MIP sintetizado com AMPSA, a retenção do corante pelo MIP foi eficiente, uma vez que as soluções tornaram-se incolores e o precipitado rosa (Figura 36B).

Figura 36 - Imagens dos tubos eppendorf® do estudo de ligação após centrifugação com diferentes concentrações de MIP e NIP (mg mL^{-1}) sintetizados com ACR (A) e AMPSA (B) como MF.



Fonte: autor do trabalho.

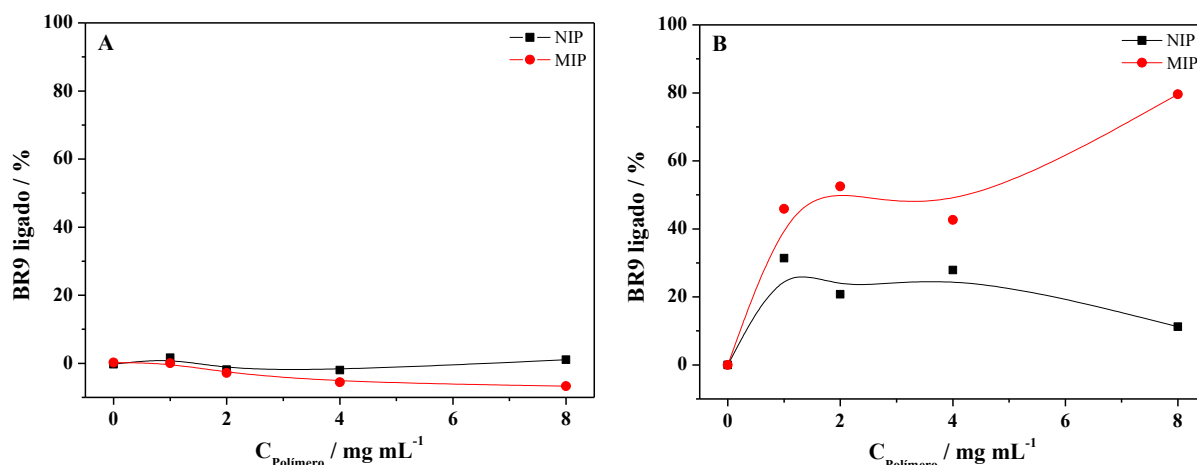
O desempenho insatisfatório do MIP sintetizado com ACR foi confirmado com o estudo de ligação apresentado na Figura 37. Quando utilizado o MIP com ACR (Figura 37A), tanto MIP como NIP apresentaram porcentagem de ligação próxima à zero, enquanto que os polímeros sintetizados com AMPSA como monômero funcional (Figura 37B), conforme discutido anteriormente, apresentaram boa porcentagem de retenção e boa distinção entre MIP e NIP.

Uma hipótese para os resultados com os MIP sintetizados com acrilonitrila iram contra a simulação computacional realizada no início do projeto é que o programa *Hyperchem*, utilizado para desenhar a estrutura do analito, não aceita compostos carregados, ou seja, somente moléculas neutras podem ser avaliadas na simulação computacional. No entanto, o corante BR9 apresenta uma carga positiva. Por essa razão, teve-se que neutralizar a estrutura da molécula ao desenhá-la no programa para que fosse possível realizar a simulação, o que provavelmente acarretou numa simulação sem confiabilidade, pois as interações eletrostáticas seriam avaliadas de maneira diferente com a ausência desta carga positiva do corante BR9.

Após sintetizar o MIP para o corante BR9 com diferentes monômeros e diferentes proporções entre os reagentes, definiu-se, para as etapas subsequentes do trabalho, que o MIP

sintetizado com o corante BR9 como molécula molde, o AMPSA como monômero funcional e na proporção de 1:3:200 entre o MM, MF e ME (EGDMA).

Figura 37 - Análise da ligação do corante BR9 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ao polímero sintetizado com o MF ACR (A) e AMPSA (B).



Fonte: autor do trabalho.

4.1.13 Avaliação da interação entre BR9 e AMPSA por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Com o objetivo de verificar a maneira como é efetuada a interação entre o corante BR9 e o monômero funcional AMPSA, foram realizadas análises de RMN. Para isso, foram preparadas três soluções distintas, inicialmente, em $700 \mu\text{L}$ de MeOH-d_4 : 8,0 mg de BR9; 8,0 mg de AMPSA e mistura entre BR9 e AMPSA totalizando 8 mg e na proporção da síntese do MIP (1:3 MM/MF). Essas mesmas soluções foram preparadas em DMSO-d_6 para análises posteriores.

Foram realizados diversos estudos de RMN de ^1H , ^{13}C , DOSY, COSY, NOESY, HMBC e HSQC, sendo mostrados somente os resultados com maior relevância.

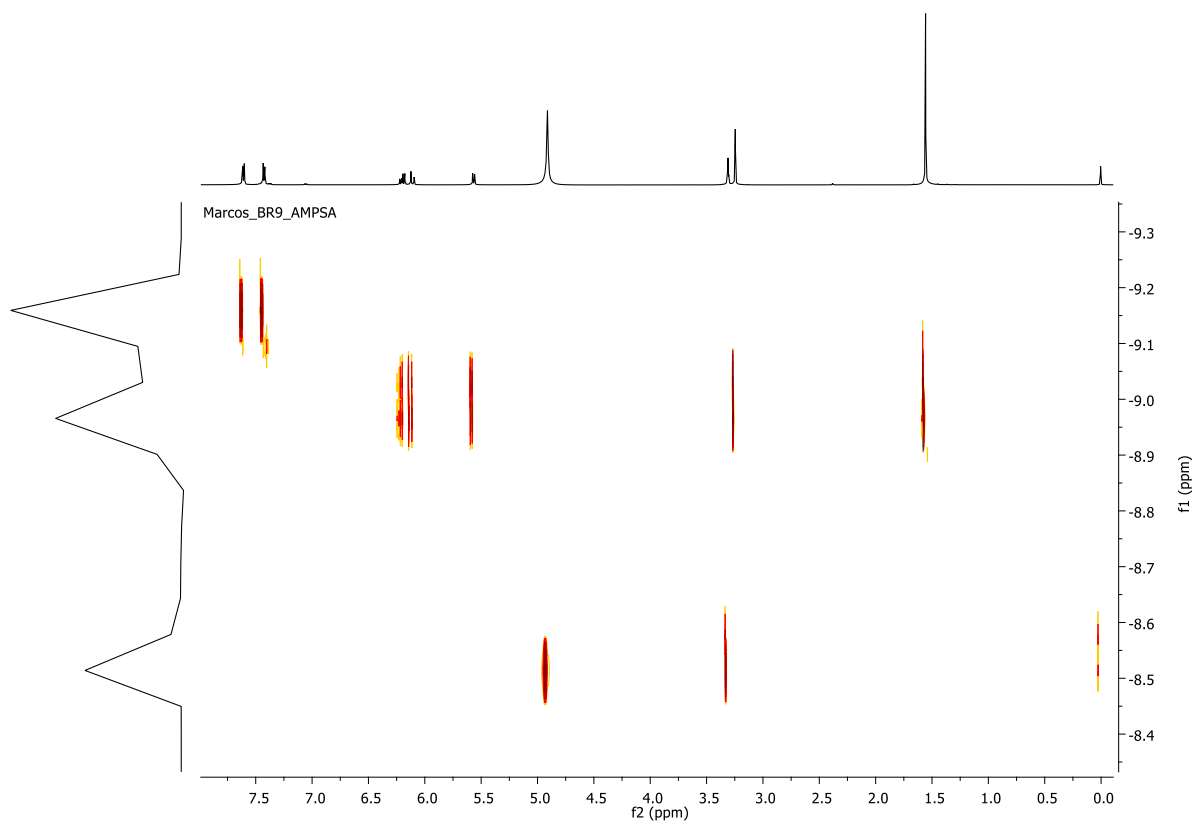
As primeiras análises de RMN foram realizadas com as amostras preparadas em MeOH-d_4 , uma vez que esse é o solvente empregado para a síntese do MIP. No entanto, não foi possível observar os hidrogênios ligados ao nitrogênio e ao oxigênio nos espectros de RMN de ^1H . Além disso, não houve alteração significativa nos deslocamentos quando se comparou os espectros dos compostos individualmente com o da mistura (dados não apresentados).

No entanto, mesmo com a ausência do sinal de alguns hidrogênios presentes nos compostos, optou-se em realizar a análise da mistura por meio do DOSY (*Diffusion Ordered Spectroscopy*) empregando o MeOH-d_4 como solvente. Nesta técnica, os deslocamentos

químicos são apresentados em uma dimensão e os coeficientes de difusão moleculares são mostrados na outra, sendo possível detectar qualquer substância que apresente núcleos ativos em RMN de ^1H (108).

No caso do ensaio realizado, visou-se verificar a existência e a intensidade da interação entre o analito e o monômero. Pois, se a interação fosse forte, como uma ligação covalente, o espectro apresentaria somente um coeficiente de difusão molecular. Entretanto, conforme apresentado na Figura 38, não foi possível observar a existência da interação entre os dois compostos, uma vez que houve a presença de dois coeficientes distintos, um do corante e outro do AMPSA.

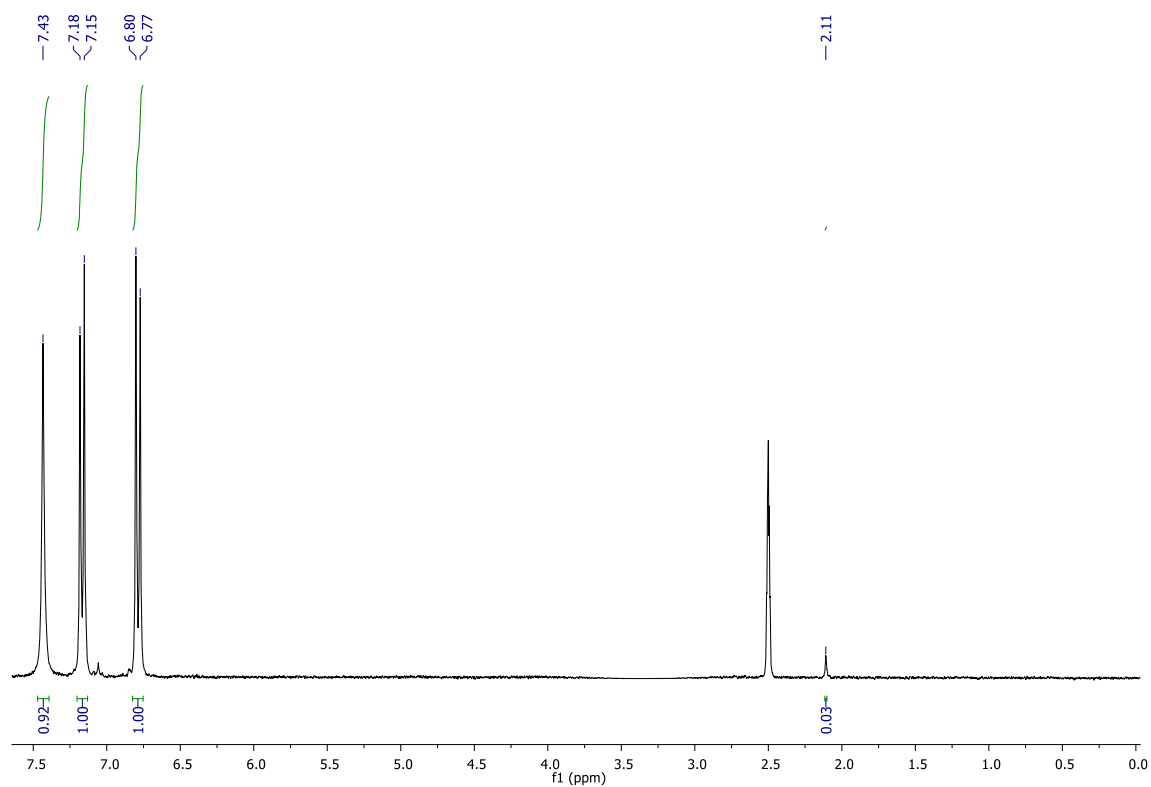
Figura 38 - Mapa de contorno de DOSY da mistura entre BR9 e AMPSA (MeOH-d_4 , 600 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

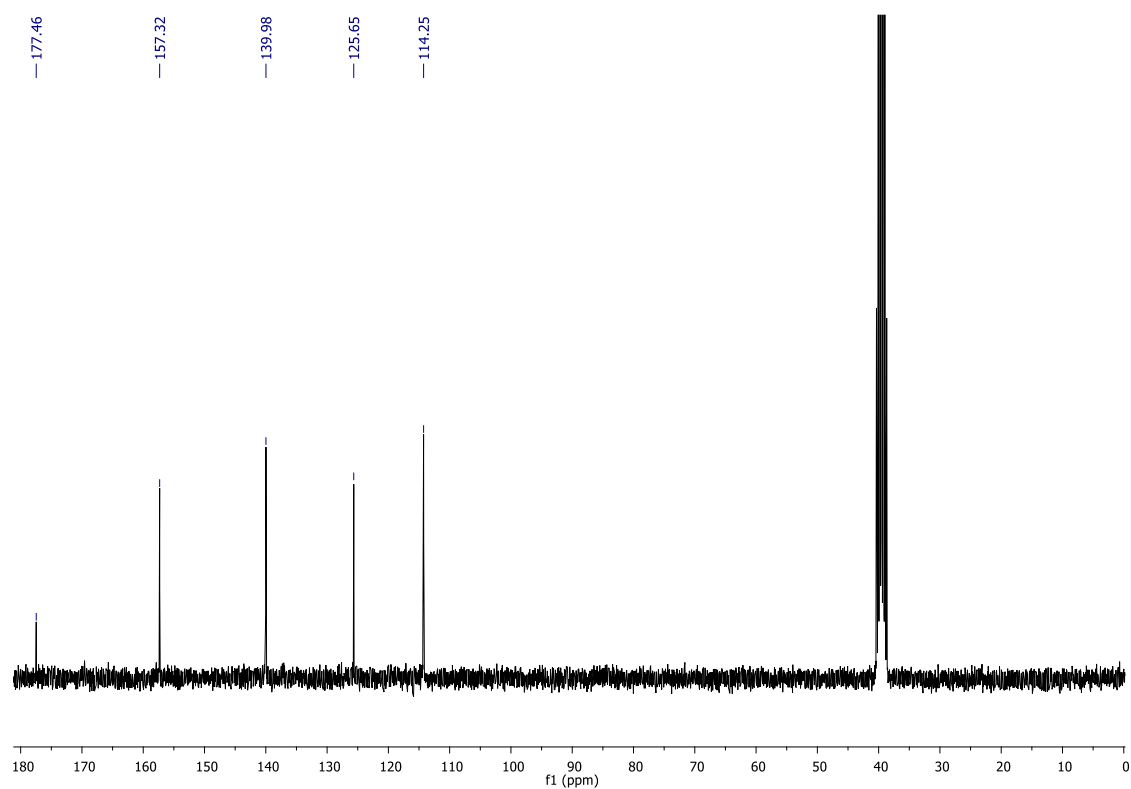
Como não foi possível concluir qual a interação que ocorre entre BR9-AMPSA quando o MeOH-d_4 foi empregado como solvente, o DMSO-d_6 foi utilizado para o preparo das amostras. Os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e HMBC (^1H - ^{15}N) para o corante BR9, o monômero funcional AMPSA e a mistura desses compostos são apresentados da Figura 39 a Figura 48.

Figura 39 - Espectro de RMN de ^1H do corante BR9 (DMSO- d_6 , 300 MHz).



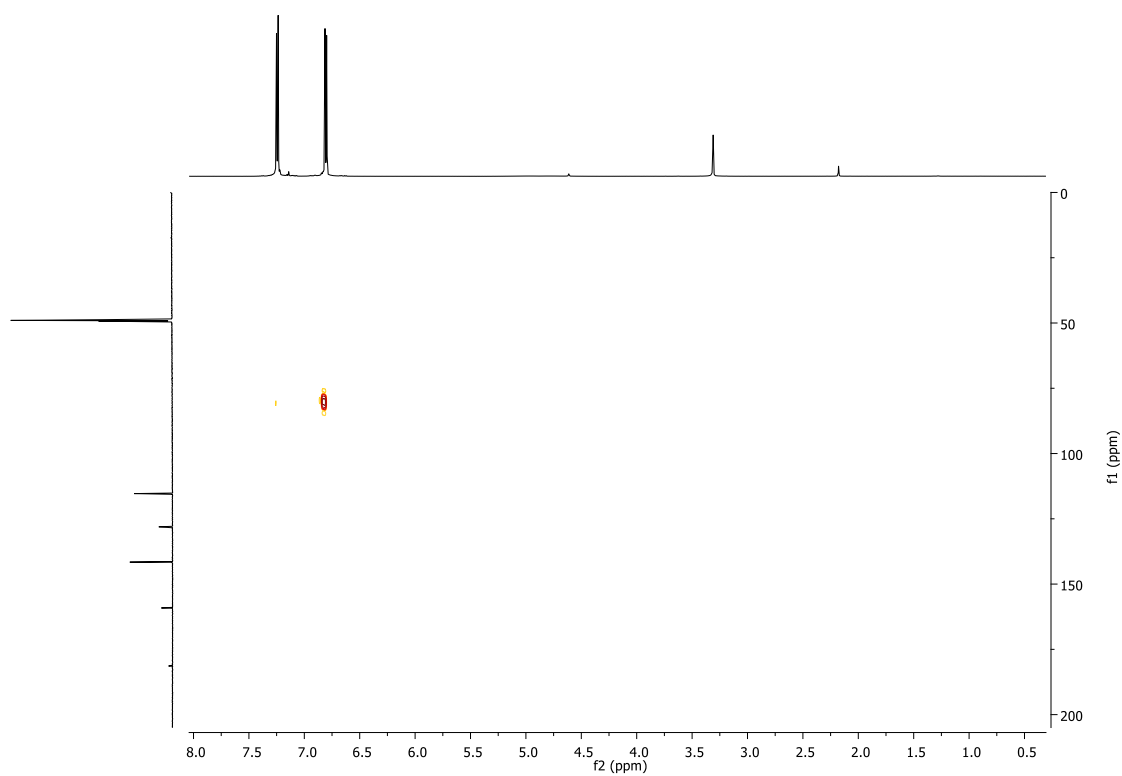
Fonte: autor do trabalho.

Figura 40 - Espectro de RMN de ^{13}C do corante BR9 (DMSO- d_6 , 300 MHz).



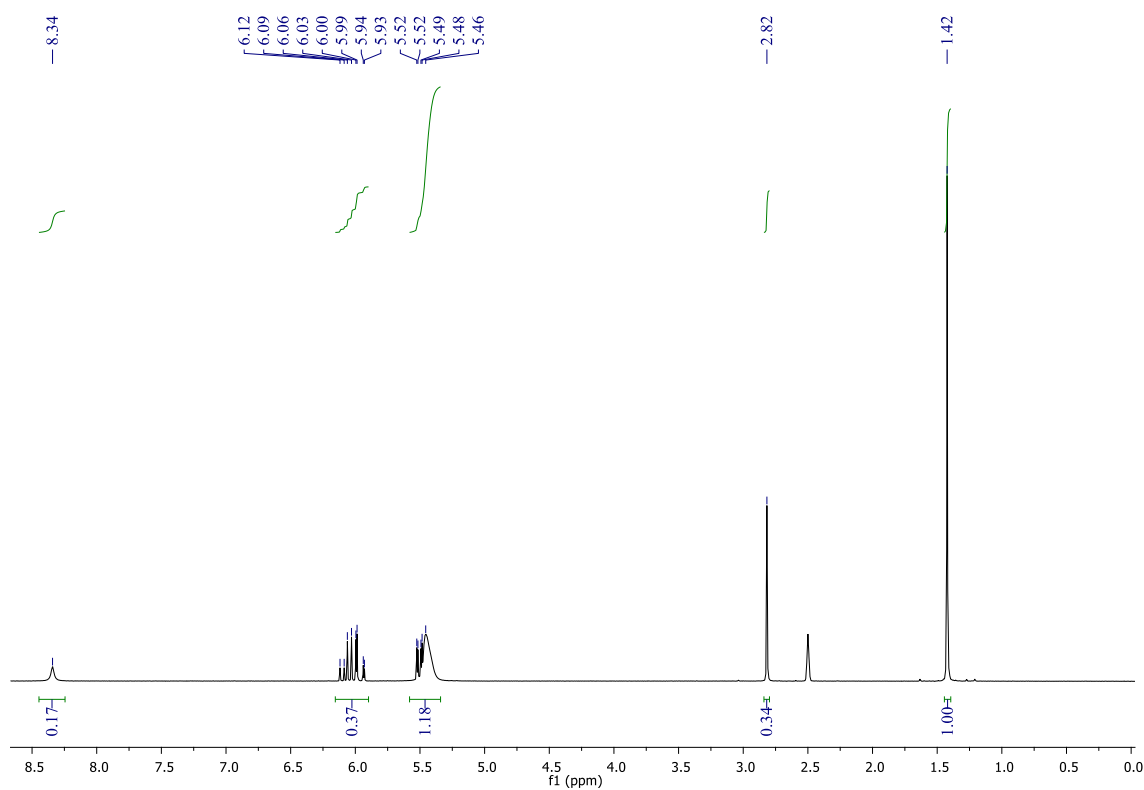
Fonte: autor do trabalho.

Figura 41 - Mapa de contorno de HMBC (^1H - ^{15}N) do corante BR9 (DMSO- d_6 , 300 MHz).



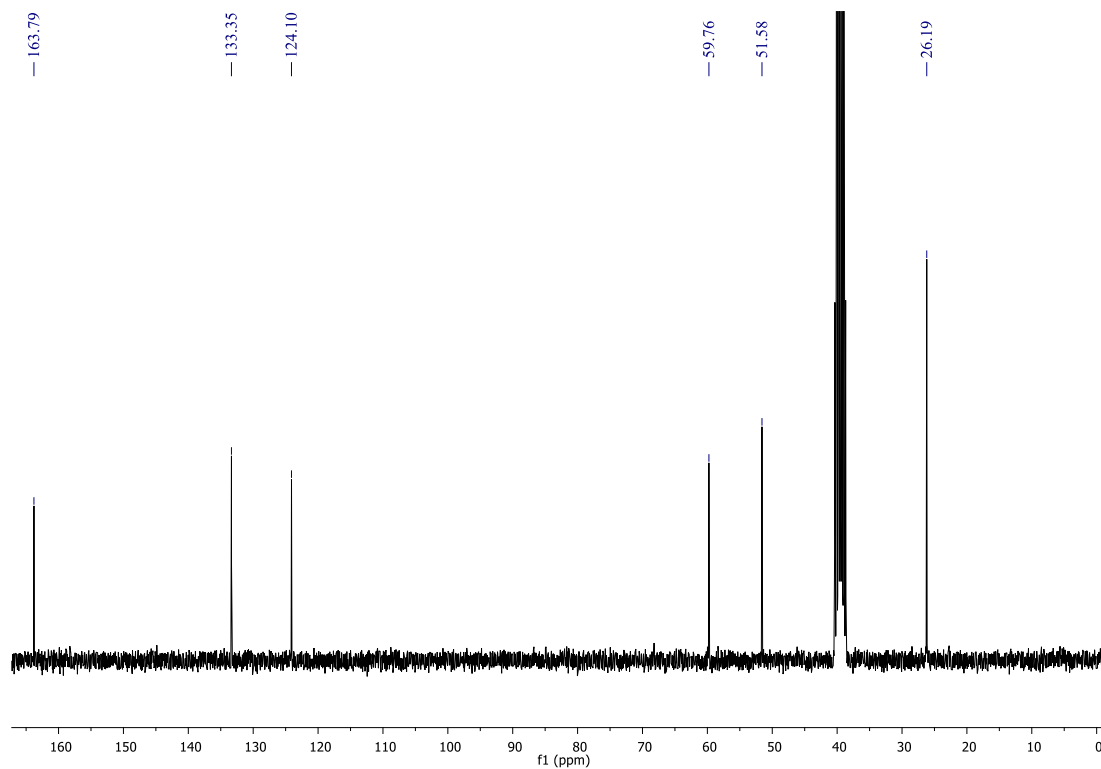
Fonte: autor do trabalho.

Figura 42 - Espectro de RMN de ^1H do monômero funcional AMPSA (DMSO- d_6 , 300 MHz).



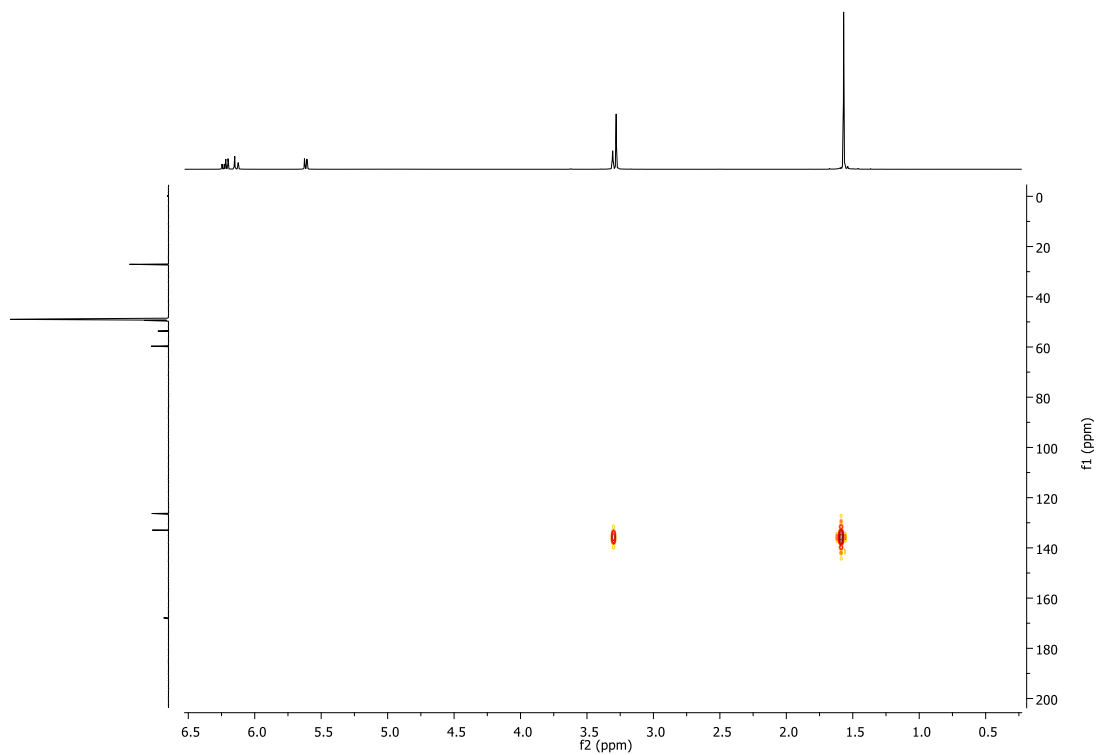
Fonte: autor do trabalho.

Figura 43 - Espectro de RMN de ^{13}C do monômero funcional AMPSA (DMSO- d_6 , 300 MHz).



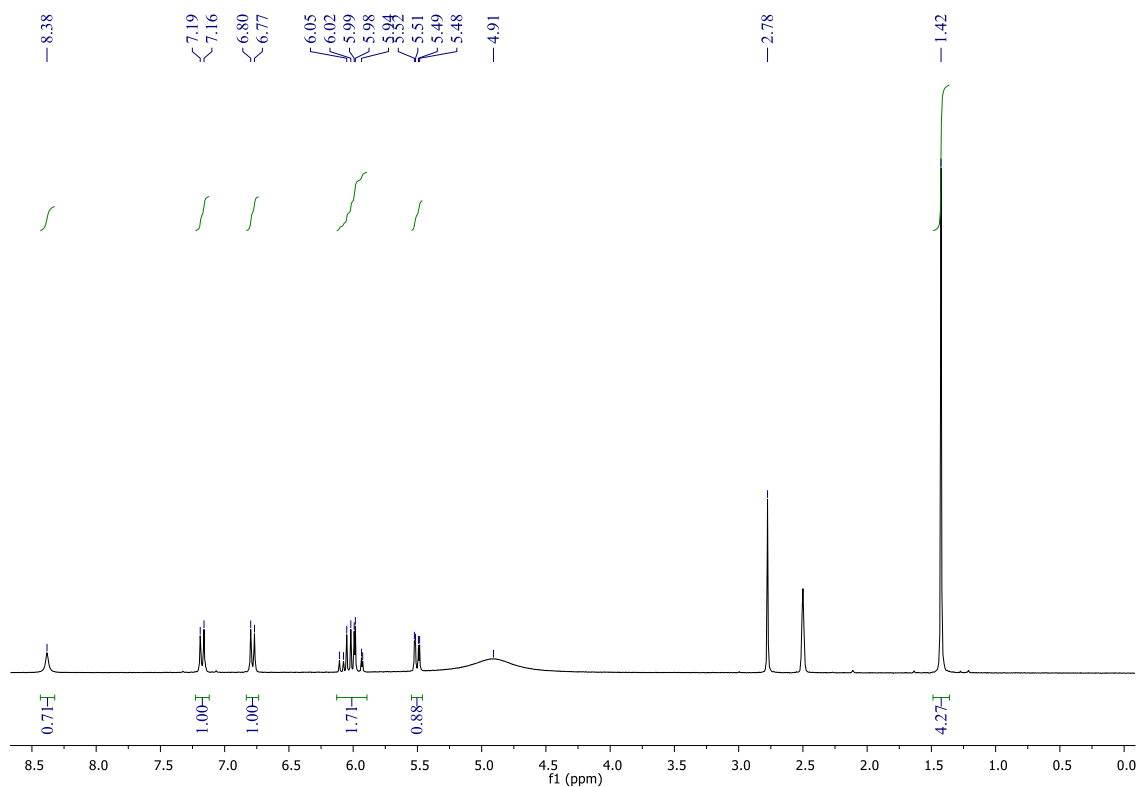
Fonte: autor do trabalho.

Figura 44 - Mapa de contorno de HMBC (^1H - ^{15}N) do monômero funcional AMPSA (DMSO- d_6 , 300 MHz).



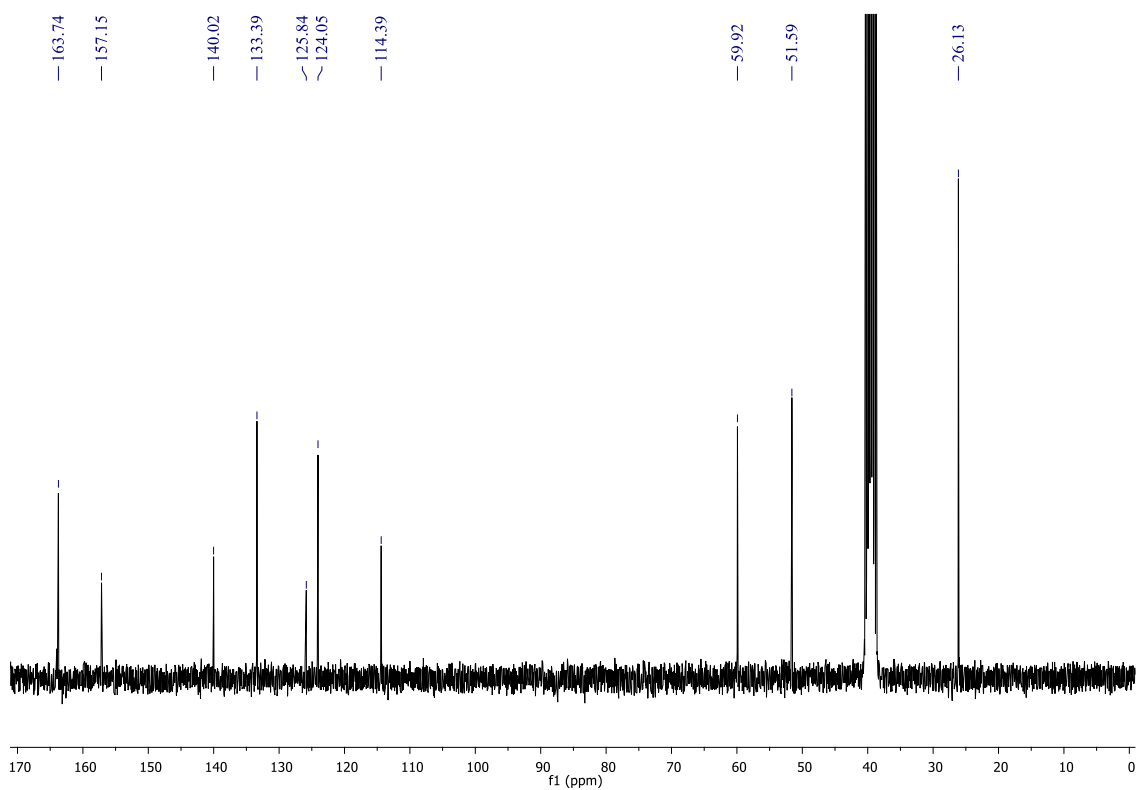
Fonte: autor do trabalho.

Figura 45 - Espectro de RMN de ^1H da mistura entre BR9 e AMPSA (DMSO- d_6 , 300 MHz).



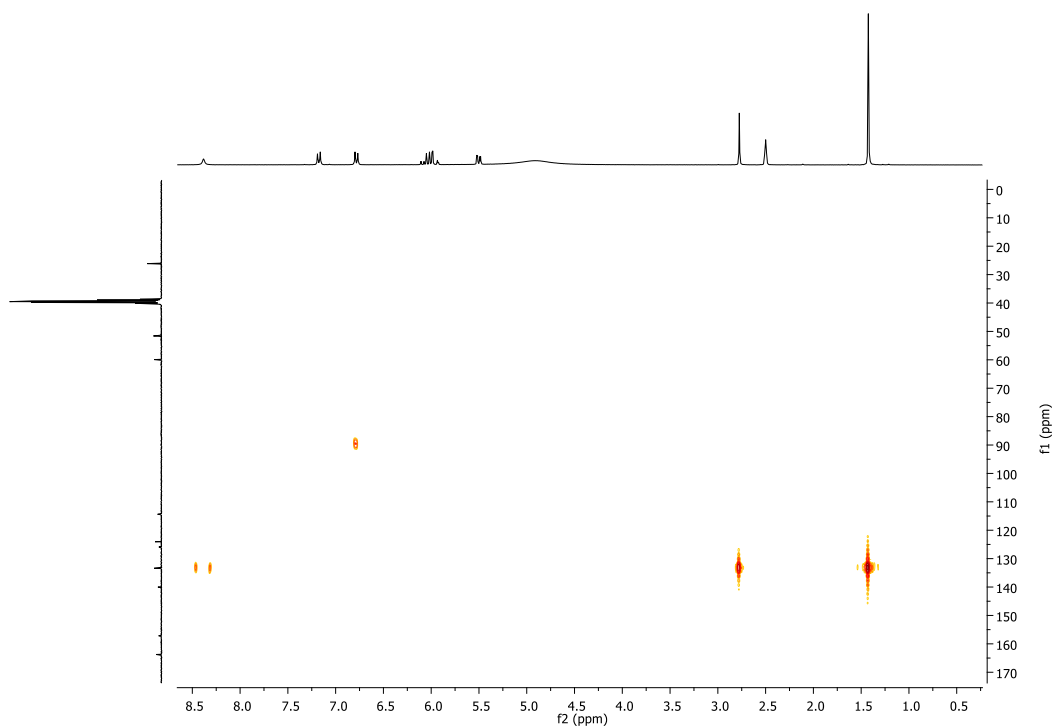
Fonte: autor do trabalho.

Figura 46 - Espectro de RMN de ^{13}C da mistura entre BR9 e AMPSA (DMSO- d_6 , 300 MHz).



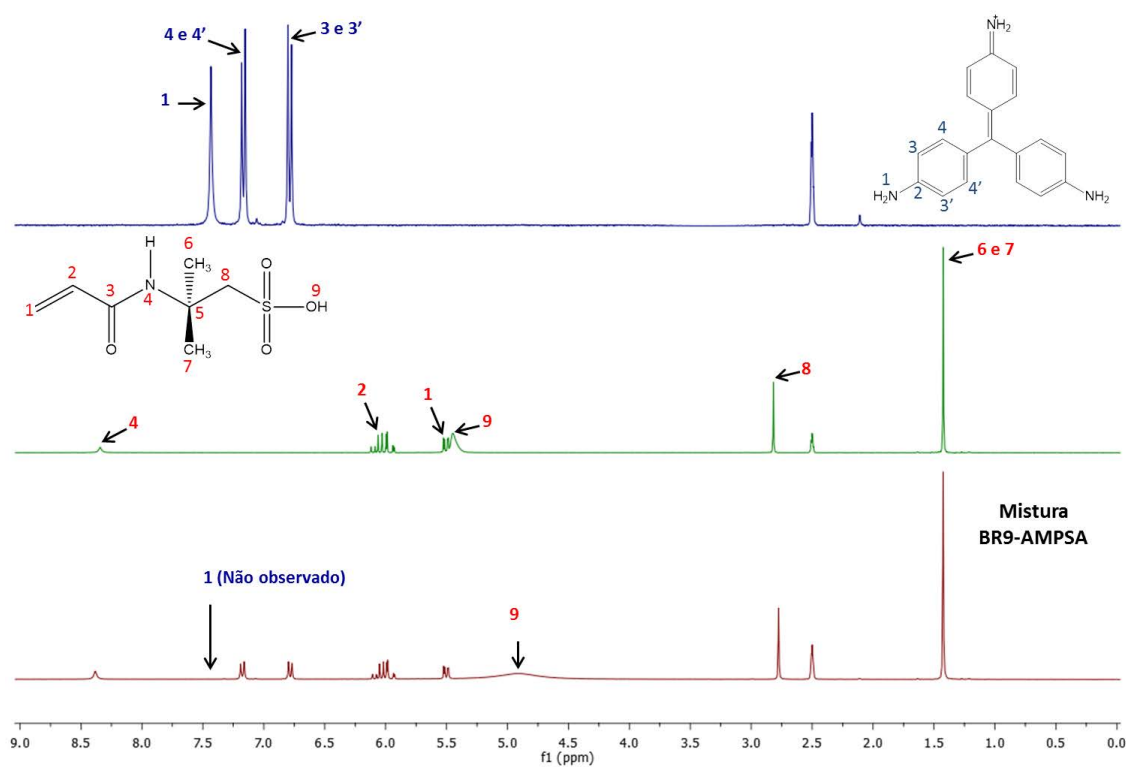
Fonte: autor do trabalho.

Figura 47 - Mapa de contorno de HMBC (^1H - ^{15}N) da mistura BR9-AMPSA (DMSO- d_6 , 300 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

Figura 48 - Espectros de RMN de ^1H do corante BR9 (azul), do monômero funcional AMPSA (verde) e da mistura BR9-AMPSA (vermelho) (DMSO- d_6 , 600 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

A partir dos espectros dos componentes isolados e da mistura foi possível atribuir os deslocamentos químicos (109,110) para cada uma das amostras (Tabela 8 e Tabela 9). A atribuição dos átomos de cada um dos compostos é representada nas moléculas da Figura 49.

Tabela 8 - Deslocamento químico (δ) do RMN de ^1H e ^{13}C do corante BR9 livre e da mistura entre BR9 e AMPSA.

Posição	Quantidade de H	δ_{H} livre	δ_{H} mistura	Variação do δ_{H}	δ_{C} ou δ_{N} livre	δ_{C} ou δ_{N} mistura	Variação de δ_{C} ou δ_{N}
1	2	7,43	*	-	90	90	0
2	0	-	-	-	125,7	125,8	0,2
3 e 3'	1	6,78	6,78	0	114,3	114,4	0,1
4 e 4'	1	7,17	7,18	0,01	140,0	140,0	0
5	0	-	-	-	157,3	157,2	0,1
6	0	-	-	-	177,5	177,5	0

*Sinal não observado

Fonte: autor do trabalho.

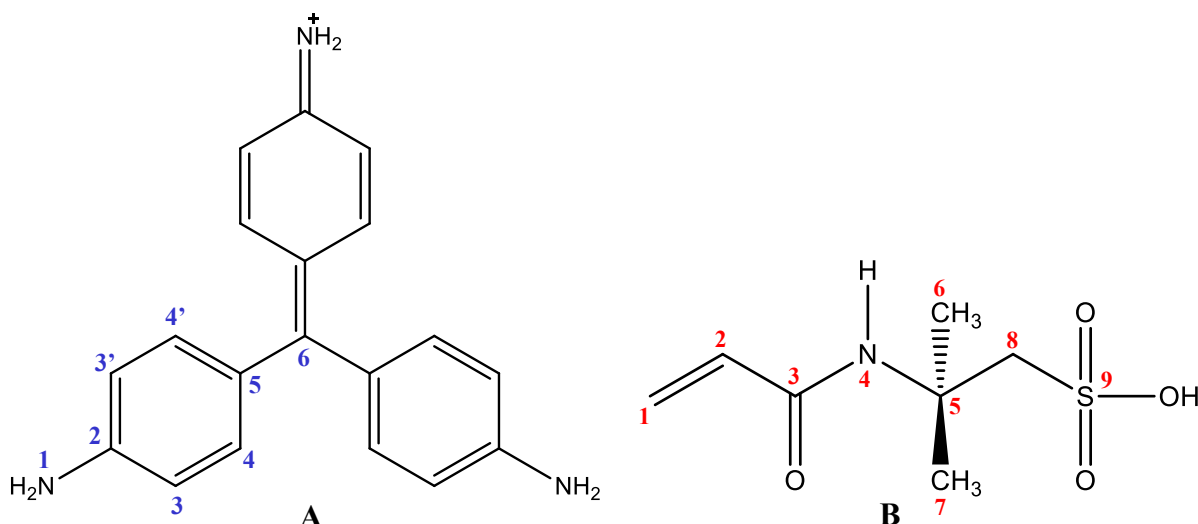
Tabela 9 - Deslocamento químico (δ) do RMN de ^1H e ^{13}C do monômero funcional AMPSA livre e da mistura entre BR9 e AMPSA.

Posição	Quantidade de H	δ_{H} livre	δ_{H} mistura	Variação do δ_{H}	δ_{C} ou δ_{N} livre	δ_{C} ou δ_{N} mistura	Variação de δ_{C} ou δ_{N}
1	2	5,51 (t)	5,51 (t)	0	124,1	124,0	0,1
		5,98 (c)	5,98(c)	0			
2	1	6,06	6,05	0,01	133,3	133,4	0,1
3	0	-	-	-	163,7	163,8	0,1
4	1	8,34	8,38	0,04	133,0	133,0	0
5	0	-	-	-	51,6	51,6	0
6	3	1,42	1,42	0	26,2	26,1	0,1
7	3	1,42	1,42	0	26,2	26,1	0,1
8	2	2,82	2,78	0,04	59,8	59,9	0,1
9	1	5,46	4,91	0,55	-	-	-

t = trans; c = cis

Fonte: autor do trabalho.

Figura 49 - Atribuição dos carbonos e hidrogênios para: (A) o corante BR9 e (B) o monômero funcional AMPSA.



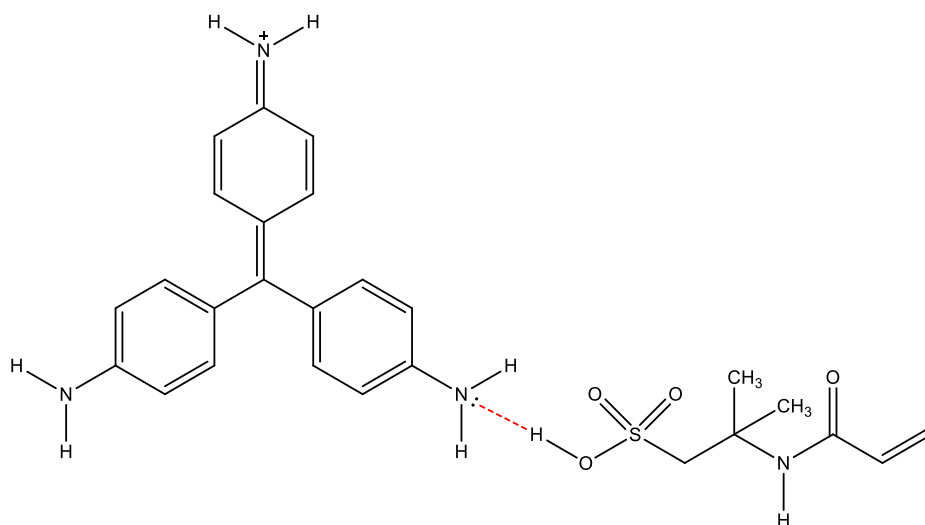
Fonte: autor do trabalho.

A partir dos deslocamentos químicos é possível observar que existe uma maior variação de δ (destacados nas Tabela 8 e Tabela 9) no H-1 do corante BR9 e no H-9 do monômero AMPSA. Como essas mudanças indicam proteção ou desproteção do átomo, é possível concluir que houve interação do grupo amino do corante ao grupo sulfonato do monômero.

Quando se empregou o MeOH-d₄ como solvente, os hidrogênios do grupo amino e sulfonato não apareceram no espectro de RMN de ¹H. Uma vez que esses são os grupos envolvidos na interação dos dois compostos, realmente não seria possível concluir o mecanismo de interação entre as moléculas utilizando-se esse solvente, justificando assim a alteração do solvente para o DMSO-d₆.

Com os resultados obtidos é possível propor o mecanismo de interação entre o corante BR9 e o monômero funcional AMPSA (Figura 50). A interação ocorre devido à ligação de hidrogênio entre o nitrogênio do grupo amino do corante BR9 e o hidrogênio do grupo sulfonato do monômero AMPSA.

Figura 50 - Proposta para a interação entre BR9-AMPSA.

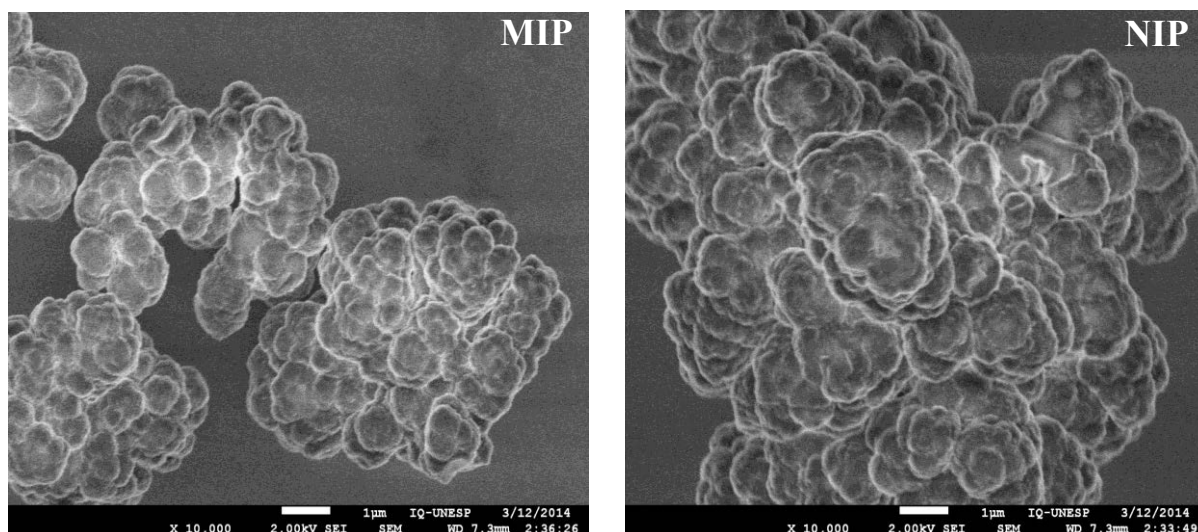


Fonte: autor do trabalho.

4.1.14 Caracterização dos polímeros por microscopia eletrônica de varredura

Para observar a estrutura de formação e uniformidade dos polímeros sintetizados, foram realizadas microscopias eletrônicas de varredura por emissão de campo, cujas imagens são apresentadas na Figura 51.

Figura 51 - Imagens de FEG-SEM do NIP e MIP.



Fonte: autor do trabalho.

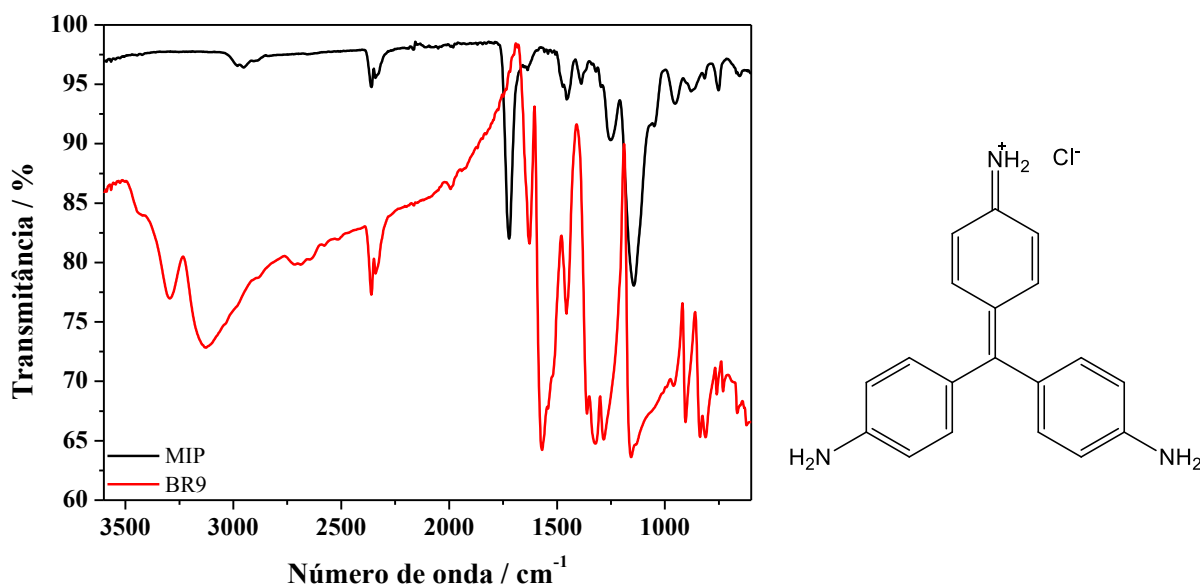
As imagens de FEG-SEM mostram que tanto o MIP como o NIP formam partículas esféricas aglomeradas com tamanho e forma homogêneos. O NIP apresentou partículas de aproximadamente $1,4 \pm 0,6 \mu\text{m}$ de diâmetro, enquanto o MIP $2,8 \pm 0,6 \mu\text{m}$.

4.1.15 Caracterização dos polímeros por espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier

Para caracterizar a estrutura do polímero molecularmente impresso, medidas espectrométricas no infravermelho com transformada de Fourier foram realizadas com o MIP e com cada um dos reagentes empregados para sua síntese. O espectro do MIP foi comparado com o espectro de cada reagente, e foi realizada a atribuição dos picos (109-112) dos componentes utilizados na síntese polimérica.

A Figura 52 apresenta o espectro de IV para o corante BR9, onde é possível observar que as bandas referentes ao grupo N-H são bastante largas, dificultando a análise e atribuição exata dos picos deste composto. O MIP foi analisado após a remoção da molécula molde, consequentemente, já era esperado que nenhuma banda referente ao corante BR9 estivesse presente em sua estrutura.

Figura 52 - Espectro na região do infravermelho do MIP após remoção da MM e do corante BR9.



Fonte: autor do trabalho.

A Tabela 10 apresenta as atribuições às bandas encontradas no espectro do corante BR9, utilizado como molécula molde na síntese do MIP.

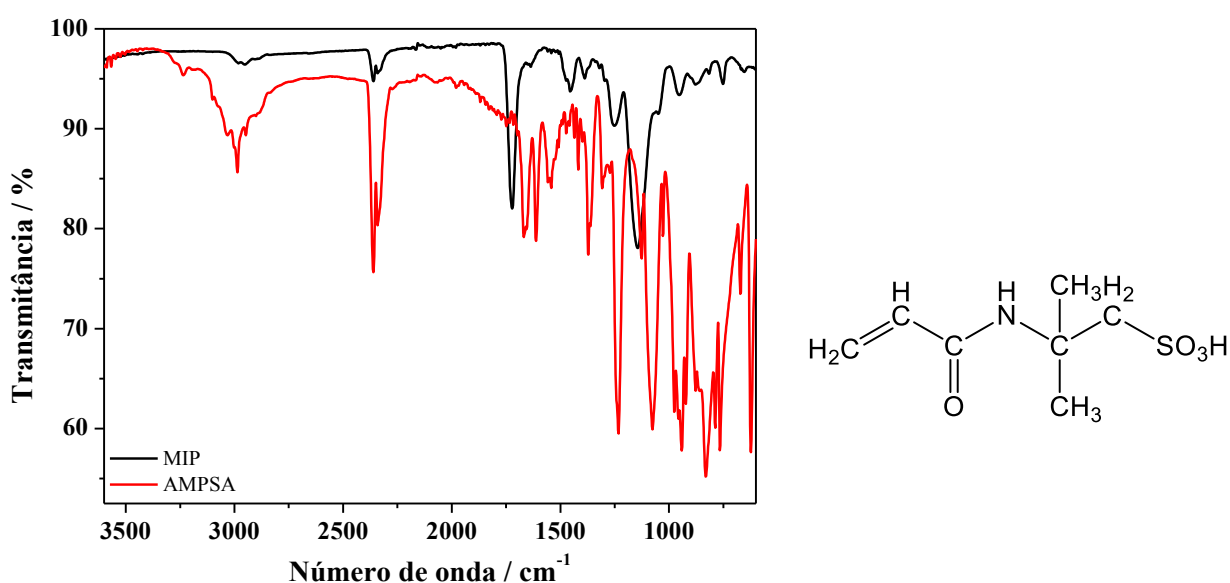
Tabela 10 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 52 com as respectivas atribuições.

Banda (cm ⁻¹)	3500-2840		2360	1623-1560	1605-1440	1376-1233	1170-935	854-780
Atribuição	ν N-H	ν C-H	ν_{as} CO ₂	δ_s N-H	ν C=C	ν C-N	δ_s C-H	ω N-H

Fonte: autor do trabalho.

O monômero funcional AMPSA apresenta bandas características em menores frequências (entre 1370 a 765 cm^{-1}) devido às vibrações da ligação com o enxofre. Como observado na Figura 53, o MIP não apresenta bandas características do AMPSA, provavelmente, devido à quantidade desse reagente na estrutura do polímero estar abaixo do limite de detecção do equipamento, uma vez que a razão molar do monômero funcional é baixa frente ao monômero estrutural.

Figura 53 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do monômero funcional AMPSA.



Fonte: autor do trabalho.

As bandas encontradas no espectro do monômero funcional AMPSA, com as respectivas atribuições, são apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 53 com as respectivas atribuições.

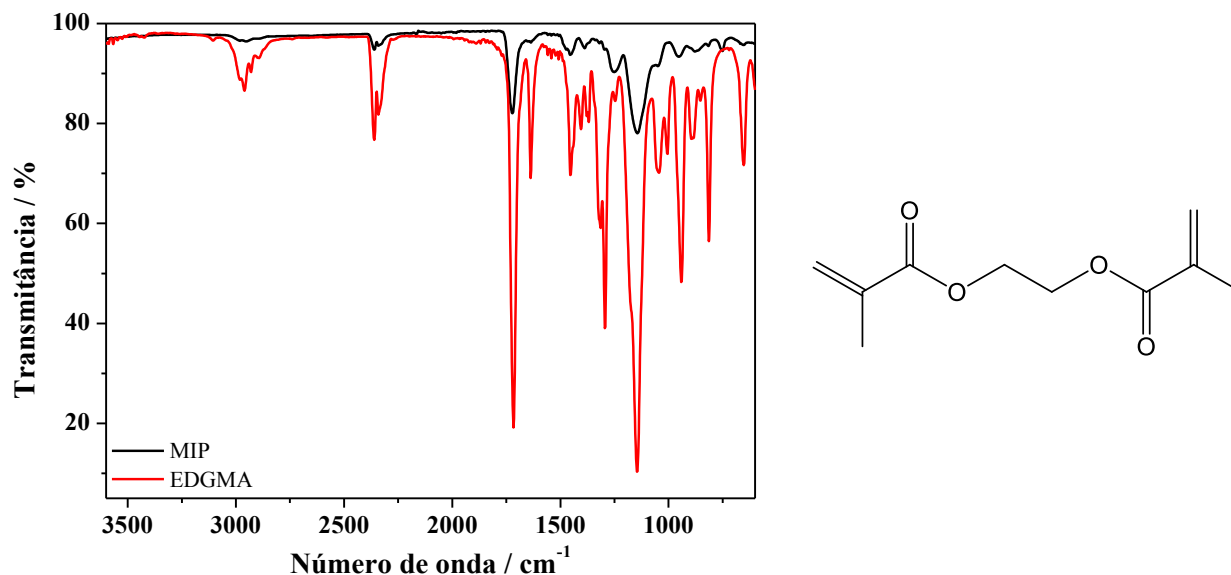
Banda (cm^{-1})	3310 - 3170	2985	2360	1668	1612	1541	1371	1230	1076 - 765
Atribuição	ν N-H	ν C-H	ν_{as} CO_2	ν C=O	ν C=C	δ_s N-H	ν_{as} (S=O) ₂	ν_s (S=O) ₂	ν S-O-C

Fonte: autor do trabalho.

O espectro no monômero estrutural EGDMA é apresentado na Figura 54, onde é possível observar as bandas características do grupo éster e 1716 e 1294 cm^{-1} , referentes, respectivamente, ao estiramento da carbonila (C=O) e da ligação C-O. Pode-se observar que o espectro de IV do MIP apresenta basicamente essas duas bandas, mostrando que a estrutura do polímero é constituída basicamente do monômero estrutural; o que já era esperado, uma vez que é o componente da síntese empregado em maior quantidade.

Outra observação interessante obtida no espectro do MIP é a grande diminuição da intensidade do sinal referente à dupla ligação entre os carbonos ($C=C$) em 1637 cm^{-1} presente no espectro do EGDMA, evidenciando que ocorreu a polimerização pelas quebras das duplas ligações entre os carbonos pelo iniciador radicalar.

Figura 54 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do monômero estrutural EGDMA.



Fonte: autor do trabalho.

As atribuições às bandas referentes ao EGDMA, monômero estrutural empregado para a síntese do MIP, são apresentadas na Tabela 12.

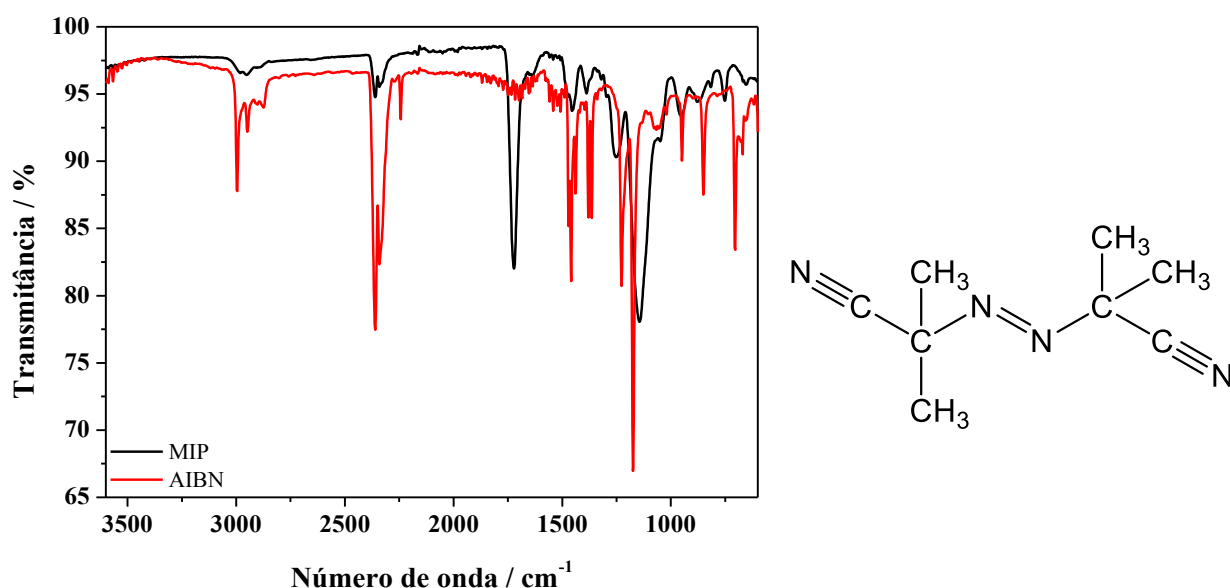
Tabela 12 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 54 com as respectivas atribuições.

Banda (cm^{-1})	2960	2360	1716	1637	1294	1145	941
Atribuição	$\nu\text{ C-H}$	$\nu_{\text{as}}\text{ CO}_2$	$\nu\text{ C=O}$	$\nu\text{ C=C}$	$\nu\text{ C-C(=O)-O}$	$\nu_{\text{as}}\text{ O-C-C}$	1,1 dissustituído fora do plano

Fonte: autor do trabalho.

O espectro do iniciador AIBN (Figura 55) é composto principalmente pelas ligações do átomo de nitrogênio ao de carbono em 2243 e 1174 cm^{-1} , referentes ao deslocamento axial das ligações $C\equiv N$ e $C-N$, respectivamente.

Figura 55 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do iniciador AIBN.



Fonte: autor do trabalho.

A Tabela 13 apresenta as bandas encontradas para o AIBN com as respectivas atribuições.

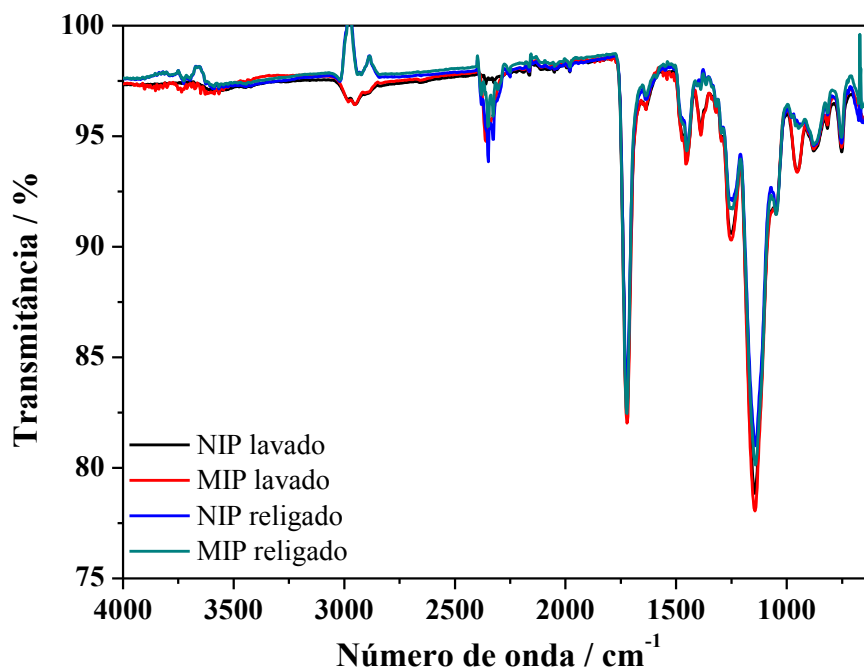
Tabela 13 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 55 com as respectivas atribuições.

Banda (cm ⁻¹)	2995	2949	2360	2243	1458	1363	1228-1174
Atribuição	ν_s C-H ₃	ν_{as} C-H ₃	ν_{as} CO ₂	ν C≡N	δ_{as} C-H ₃	δ_s C-H ₃	ν C-N

Fonte: autor do trabalho.

Medidas de espectrometria na região do infravermelho foram realizadas para o NIP e MIP após a etapa de lavagem e após a religação do corante BR9 aos polímeros, conforme apresentado na Figura 56. O objetivo desse estudo era verificar que havia a religação somente às cavidades específicas do MIP. No entanto, não houve mudança no perfil dos espectros e nem na intensidade dos picos que evidenciassem a interação do corante aos polímeros. Provavelmente, não houve alteração entre as medidas, devido à quantidade de analito presente na estrutura do polímero estar abaixo do limite de detecção do equipamento.

Figura 56 - Espectro na região do infravermelho do NIP e MIP lavados e após a religação do corante BR9 a esses polímeros.



Fonte: autor do trabalho.

4.1.16 Análise da porosidade pelo método BET

Um dos principais parâmetros a ser avaliado quando se sintetiza polímeros impressos é a sua porosidade, pois o volume do poro e a área superficial que mostrarão a principal diferença entre MIP e NIP. Uma vez que esses poros consistem na cavidade seletiva para o analito presente na estrutura do MIP, sendo essa responsável pelo reconhecimento molecular.

A técnica BET foi utilizada a fim de verificar a formação e tamanho dos poros dos polímeros pela medida de área superficial, uma vez que um tamanho de superfície maior é diretamente proporcional à quantidade de cavidades formadas.

Essa técnica consiste basicamente em preencher os poros do material com um líquido proveniente da condensação de um gás - normalmente nitrogênio - e, dessa forma, o tamanho ou volume dos poros podem ser calculados a partir da pressão relativa com que há adsorção ou dessorção do nitrogênio (113).

Os resultados obtidos a partir dessa técnica são apresentados na Tabela 14, onde observa-se que o MIP para o corante BR9 apresentou uma área superficial 12,3 vezes maior e volume do poro 13,5 vezes superior que NIP, evidenciando que as cavidades seletivas para o corante BR9 foram formadas no polímero impresso. Concordando com os resultados de religação do analito aos polímeros descritos nas seções anteriores, onde a religação do corante ao MIP é superior que ao NIP.

Tabela 14 - Parâmetros obtidos pelo método BET para os MIP/NIP.

Polímero	Área superficial (m ² g ⁻¹)	Volume do poro (m ³ g ⁻¹)	Tamanho do poro (Å)
NIP	7,2073	0,002853	30,049
MIP	88,3042	0,038539	28,941

Fonte: autor do trabalho.

De acordo com Gregg e Sing (114), materiais porosos podem ser classificados em função do diâmetro (ϕ) dos poros conforme apresentado na Tabela 15. Diante do diâmetro do poro obtido pelo método BET, aproximadamente 30 Å, tanto MIP como NIP são classificados como mesoporos.

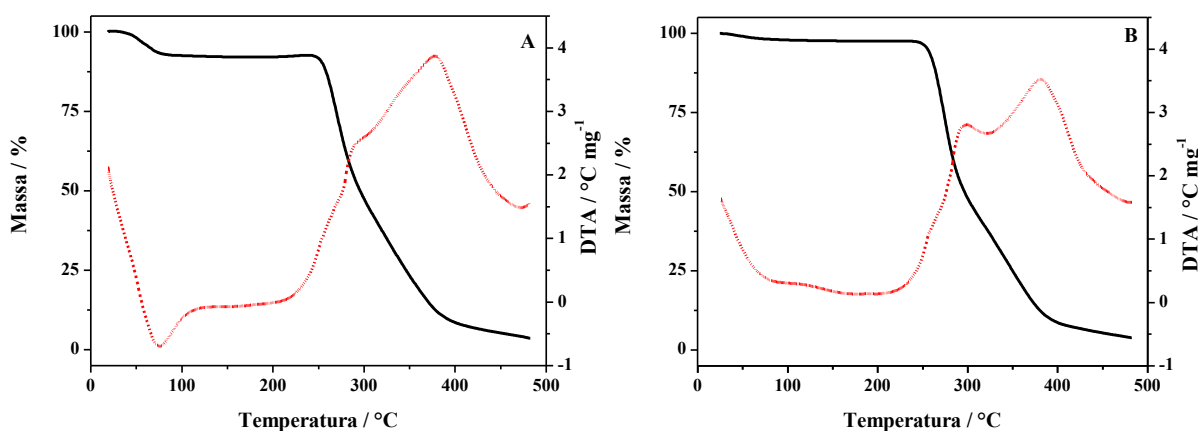
Tabela 15 - Classificação dos poros segundo seu diâmetro.

Classificação	Diâmetro (Å)
Microporo	$\phi < 20$
Mesoporo	$20 < \phi < 500$
Macroporo	$\phi > 500$

Fonte: GREG e SING (1982) (114).

4.1.17 Análise térmica dos polímeros

Visando verificar a estabilidade térmica dos polímeros, realizaram-se análises termograviméticas e térmicas diferenciais do NIP e MIP para o corante BR9, cujos resultados são apresentados na Figura 57.

Figura 57 - Análise termogravimétrica (preto) e análise térmica diferencial (vermelho) para o NIP (A) e MIP (B) para o corante BR9.

Fonte: autor do trabalho.

A partir das análises de TG verifica-se que tanto o NIP como o MIP apresentaram comportamentos térmicos semelhantes. Ambos apresentaram perda da água adsorvida na

estrutura dos polímeros, conforme observado até 100 °C. Entre 100 e 245 °C não houve perda de massa significativa e após, aproximadamente, 245 °C houve a decomposição do material. Nas análises DTA pode ser observado que esta transição corresponde a picos exotérmicos.

Desta forma, o MIP pode ser utilizado em uma ampla faixa de temperatura, o que se mostra como uma vantagem em relação a compostos biológicos como enzimas e anticorpos, que são altamente sensíveis a pequenas mudanças na temperatura.

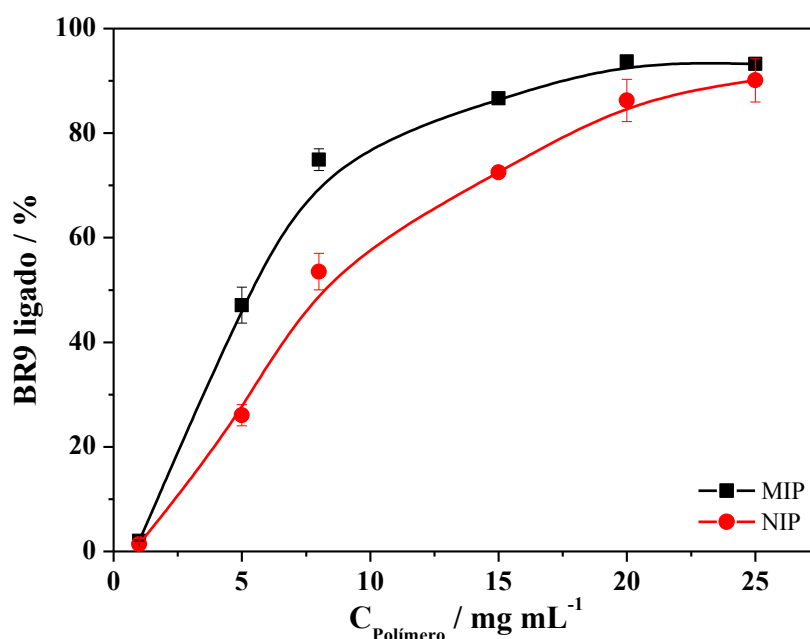
No entanto, cabe ressaltar que apesar do polímero apresentar estabilidade térmica até 245 °C, não se sabe o comportamento das cavidades seletivas do MIP frente às altas temperaturas. Para garantir que o MIP pode alcançar tais temperaturas, sem danificar as cavidades, seriam necessárias técnicas mais específicas, como BET sob diferentes temperaturas de análise.

4.1.18 Análise de ligação do corante BR9 ao MIP empregando concentrações poliméricas mais elevadas

Depois de realizada todas as caracterizações dos polímeros para o corante BR9, os estudos de religação do corante BR9 ao MIP foram retomados.

Objetivando aumentar a religação de BR9 ao MIP, foi avaliada a religação do analito aos polímeros utilizando concentrações maiores: 5, 8, 15, 20 e 25 mg mL⁻¹ (Figura 58).

Figura 58 - Análises de ligação entre o corante BR9 e o polímero AMPSA na proporção 1:3:200. Condições experimentais: 10 µmol L⁻¹ de BR9; solvente: água; tempo de interação de 4 h; n=3.



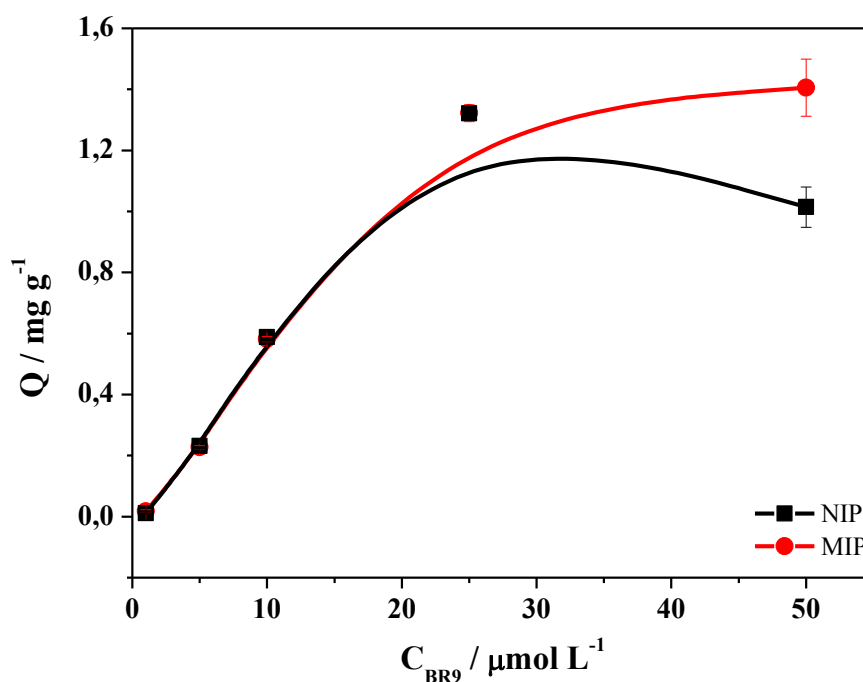
Fonte: autor do trabalho.

O uso de maior quantidade de polímero aumentou a porcentagem de analito ligado de 75%, quando se utilizou 8 mg mL^{-1} de polímero, para 93%, a 20 mg mL^{-1} . No entanto a diferença da porcentagem ligada ao NIP e MIP foi menor, mostrando que quando se utiliza maior quantidade de polímero, há um maior número de ligações inespecíficas e adsorção do corante à superfície do polímero. Sendo assim, optou-se por utilizar 8 mg mL^{-1} de polímero para as análises subsequentes.

4.1.19 Isoterma de adsorção do corante BR9 ao MIP-AMPSA

Com a síntese do MIP para o corante BR9 bem definida e condições de religação otimizadas, foi realizado o estudo da isoterma de adsorção do corante BR9 aos polímeros. Para a construção da curva foram analisadas diferentes concentrações do analito (1, 5, 10, 25 e $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) e solução polimérica na concentração de 8 mg mL^{-1} em água com interação de 4 h (Figura 59).

Figura 59 - Isoterma de adsorção do corante BR9 ao NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: 8 mg mL^{-1} de polímero; solvente: água; tempo de interação de 4 h; $n=3$.



Fonte: autor do trabalho.

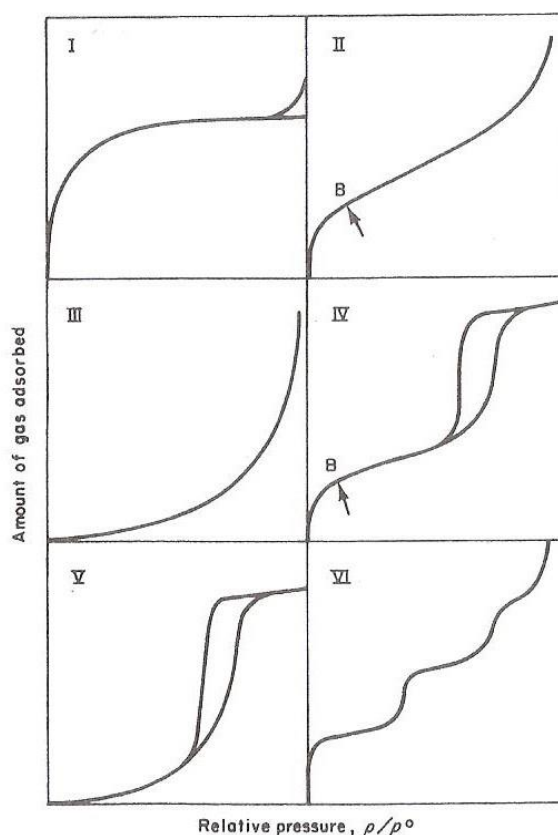
A isoterma apresentou um valor de Q razoável, contudo baixa diferenciação entre os polímeros em baixas concentrações do corante. Com o aumento da concentração do analito há uma preferência do analito se ligar as cavidades seletivas do MIP, desta forma há maior religação do corante MIP que ao NIP.

A partir do perfil da curva de isoterma obtida é possível obter característica quanto ao poro do adsorvente, no caso, o MIP.

Os perfis das curvas de isoterma estão relacionados com o tipo de porosidade do sólido. Fazendo-se uma comparação da isoterma de adsorção de um analito ao MIP com a isoterma de adsorção de um gás, em geral o N_2 , a um adsorvente, é possível obter algumas características do polímero.

Existem seis principais tipos de curvas de isotermas de adsorção (Figura 60), sendo os demais formatos variações desses tipos principais.

Figura 60 - Tipos de isotermas denominadas de I a VI.



Fonte: GREG e SING (1982, p. 4) (114).

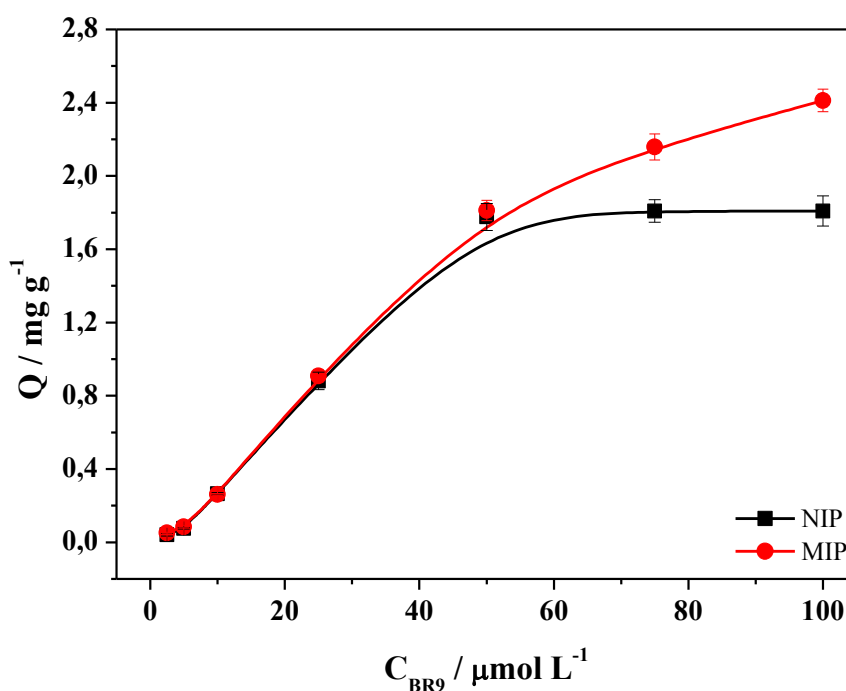
A isoterma do tipo I é característica de sólidos com microporosidade e pode ser limitada a monocamadas. Isotermas do tipo II e IV são os tipos mais encontrados em análises de adsorção, ocorrem em sistema não poroso ou com poros no intervalo de mesoporos ou macroporos, sendo o ponto de inflexão da isoterma correspondente à ocorrência da formação da primeira camada adsorvida que recobre toda a superfície do material. Na isoterma do tipo IV indica a presença de microporos associados à mesoporos. Isotermas do tipo III e V são características de sistemas onde as moléculas do adsorvato apresentam maior interação entre

si do que com o adsorvente, ou seja, as interações entre adsorvente e adsorvato são fracas, e ocorrem em sistemas contendo macro e mesoporos. A isoterma do tipo VI é obtida por meio da adsorção do gás por um sólido não poroso de superfície quase uniforme (113-115).

A partir de uma análise qualitativa, observa-se que a isoterma de adsorção do corante BR9 se enquadra na do tipo I, característica de materiais microporosos. No entanto, de acordo com a classificação pelo tamanho dos poros, o MIP é mesoporoso, pois o diâmetro dos poros é de aproximadamente 28 Å (Tabela 14).

Para verificar se o comportamento da curva de isoterma se manteria do tipo I com o aumento da concentração do analito, uma nova curva foi construída ampliando o intervalo de concentração do corante BR9 até 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 61).

Figura 61 - Isoterma de adsorção do corante BR9 ao NIP (■) e MIP (●) com um maior intervalo de concentração do analito. Condições experimentais: 8 mg mL^{-1} de polímero; solvente: água; tempo de interação de 4 h; n=3.



Fonte: autor do trabalho.

Com a ampliação do intervalo de concentração do corante BR9, é possível observar que a curva do MIP tende a apresentar valores de Q mais elevados e não constantes como aparentava na Figura 59. Portanto, pode-se classificar o comportamento do MIP como do tipo II, que indica a presença poros no intervalo de mesoporos ou macroporos. Este resultado está de acordo com os obtidos na análise de BET, no qual o MIP apresentou tamanhos de poros classificados como mesoporos.

Uma maneira de avaliar o desempenho do polímero impresso é pelo cálculo do fator de impressão (I) de um MIP em relação ao NIP (57). Esse parâmetro é avaliado pelo coeficiente de partição (K_P), que é a razão entre o número médio de moléculas ligadas às cavidades do polímero (Q) e a concentração da molécula livre em solução (C_l) conforme mostrado na Equação 3. Portanto o valor de I é obtido pela razão entre o coeficiente de partição de uma molécula em um polímero impresso ($K_{P,MIP}$) e o coeficiente de partição em um polímero não impresso ($K_{P,NIP}$) como representado pela Equação 5.

$$K_P = \frac{Q}{C_l} \quad (\text{Equação 4})$$

$$I = \frac{K_{P,MIP}}{K_{P,NIP}} \quad (\text{Equação 5})$$

Diante destas equações, o fator de impressão do MIP para o corante BR9 foi calculado e apresentado na Tabela 16.

Tabela 16 - Parâmetros de religação do corante BR9 às cavidades livres do MIP a partir da determinação da capacidade de religação (Q), coeficiente de partição (K_p) e fator de impressão (I).

Polímero	$Q / \text{mg g}^{-1}$	$K_p / \text{mL g}^{-1}$	I
NIP	1,81	0,101	1,82
MIP	2,41	0,184	

Fonte: autor do trabalho.

Observa-se que o fator de impressão foi satisfatório, uma vez que apresentou valor superior a 1,0, o que indica que há uma preferência do corante BR9 se ligar às cavidades da estrutura polimérica do polímero impresso.

4.1.20 Estudo de seletividade com o MIP para BR9

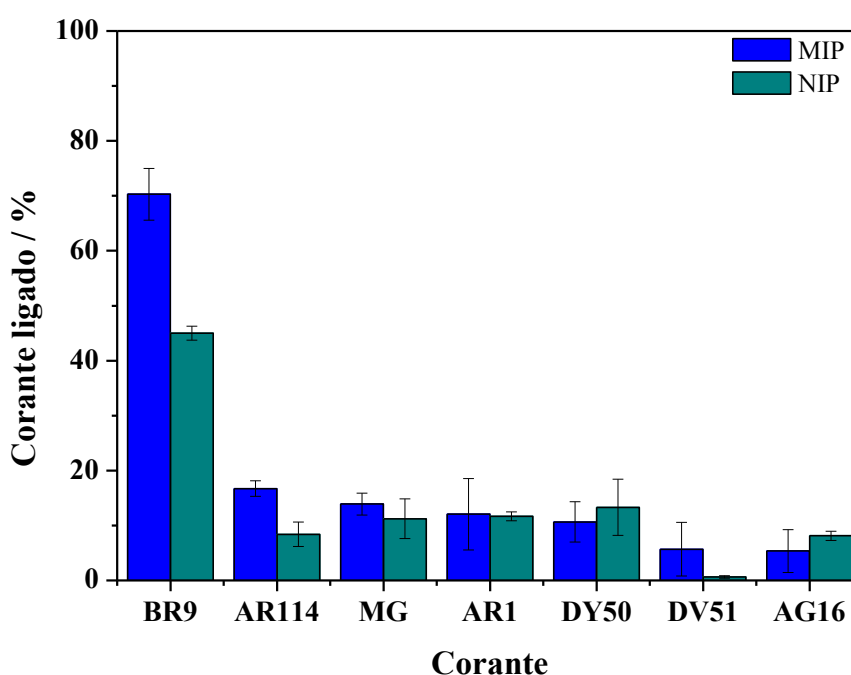
Tendo em vista que o corante BR9 é geralmente utilizado na indústria têxtil na presença de outros corantes, o estudo da interação do MIP com outros corantes têxteis é importante para avaliar a seletividade das cavidades do MIP.

Por essa razão, o MIP para o corante BR9 foi analisado na presença de outros seis corantes: Verde de Metila (MG), Verde Ácido 16 (AG16), Vermelho Ácido 1 (AR1), Violeta Direto 51 (DV51), Vermelho Ácido 114 (AR114) e Amarelo Direto 50 (DY50). As estruturas desses corantes foram apresentadas na Figura 8.

Os corantes MG e AG16 foram escolhidos por possuírem o mesmo grupo cromóforo do BR9, o trifenilmetano, e os demais corantes escolhidos apresentam o grupo cromóforo azo, que representa uma importante classe de corantes empregados na indústria têxtil (116).

O estudo de seletividade foi executado utilizando 8 mg mL^{-1} dos polímeros incubados com $50 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada um dos corantes durante 4 h e a porcentagem de ligação dos corantes aos polímeros foi comparada (Figura 62).

Figura 62 - Ligação dos diferentes corantes têxteis ao MIP e NIP para BR9. Condições experimentais: concentração dos corantes: $50 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$; concentração polimérica: 8 mg mL^{-1} ; solvente: água; tempo de interação: 4 h; $n=3$. O comprimento de onda utilizado para o monitoramento foi o característico de cada um dos corantes.



Fonte: autor do trabalho.

O MIP para o corante BR9 mostrou-se muito seletivo, uma vez que o corante BR9 apresentou uma porcentagem de ligação muito superior aos valores dos demais corantes. Vale ressaltar que houve uma alta seletividade mesmo para o corante MG que apresenta uma estrutura bastante semelhante ao analito de interesse.

4.1.21 Aplicação em amostra de efluente industrial têxtil contaminado com BR9

A avaliação da eficiência dos polímeros na extração do corante BR9 em amostras de efluentes industriais têxteis foi realizada utilizando o MIP e NIP empacotados em cartuchos para extração em fase sólida (SPE).

Para isso, uma amostra de efluente da indústria têxtil, que não possuía o corante BR9 em sua composição, foi contaminada com o corante BR9 na concentração de $6,25 \mu\text{mol L}^{-1}$. Com o intuito de comparar a eficiência de extração do corante da amostra e da eluição do analito retido ao polímero, preparou-se uma solução padrão do corante na mesma concentração da contaminação da amostra em água deionizada.

Então, 25,00 mL da solução padrão do corante e da amostra contaminada foram passadas nos cartuchos contendo os polímeros como recheio num fluxo aproximado de 2 mL min^{-1} . Em seguida, 10,00 mL de metanol foram utilizados para extrair o corante dos polímeros, objetivando pré-concentrar o analito 2,5 vezes. No entanto, esse volume de metanol não foi suficiente para a total remoção do analito das cavidades do MIP, sendo necessário adicionar mais 15,00 mL no cartucho para a total extração, totalizando assim 25,00 mL de metanol. Desta forma, o corante não foi pré-concentrado, apenas foi realizado um *clean up* da amostra.

Paralelamente, a extração do corante BR9 da amostra do efluente contaminado foi analisada usando cartucho de SPE comerciais, contendo C18, MIP para fluoroquinolona e MIP para nitroimidazol empacotados.

A absorbância da solução de corante em metanol foi monitorada em 540 nm e os resultados são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 - Valores de recuperação relativa do corante BR9 em uma amostra de um efluente industrial têxtil a partir do uso de com diferentes cartuchos de SPE.

Solução	Recheio do SPE	Recuperação relativa / %
Solução padrão do corante	NIP	79,5
	MIP	100
Amostra de efluente contaminada	NIP	74,4
	MIP	109,1
	C18	5,0
	MIP _{Fluoroquinolona}	6,6
	MIP _{Nitroimidazol}	33,2

*O valor real da extração do MIP na solução padrão de corante foi de 41,5%. As recuperações dos demais polímeros sintetizados neste trabalho foram normalizadas.

Fonte: autor do trabalho.

O MIP apresentou uma boa porcentagem de recuperação e com uma diferença significativa frente ao NIP. Adicionalmente, o método proposto mostrou-se muito superior quando comparado a cartuchos de SPE comerciais, podendo destacar a baixa porcentagem de retenção do cartucho com C18, que é um material amplamente empregado para a extração SPE e *clean-up* de amostras.

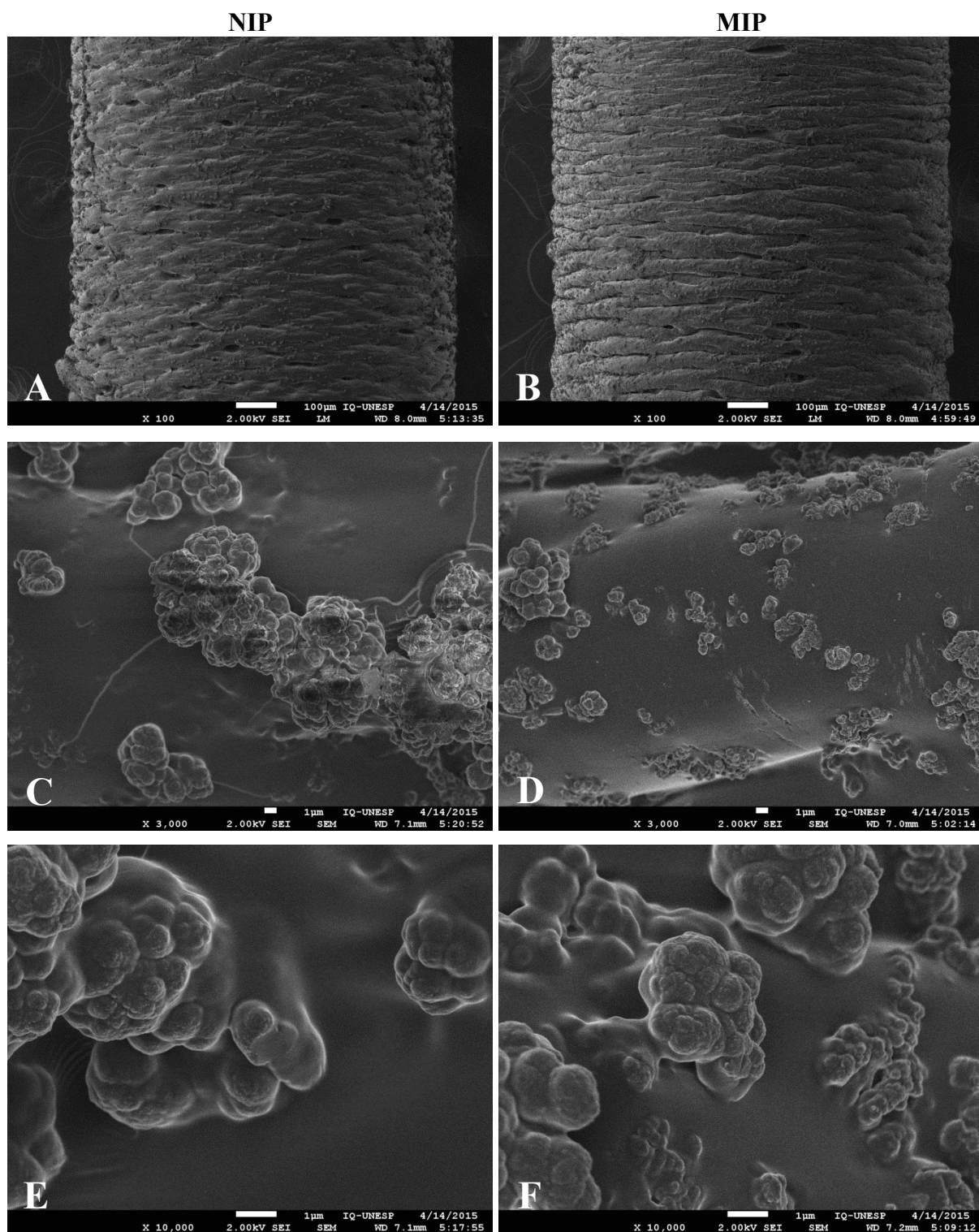
4.1.22 Imobilização do MIP sobre a fibra óptica de poliestireno por oclusão

Depois de otimizada a síntese do MIP e verificado que o melhor polímero foi o obtido a partir da síntese na proporção 1:3:200 (BR9:AMPSA:EGDMA), os polímeros foram imobilizados sobre a superfície da fibra óptica de poliestireno por meio da oclusão em PVA.

A imobilização dos polímeros sobre a fibra óptica foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (Figura 63). Conforme indicado nas imagens obtidas pelo FEG-SEM, houve a imobilização do NIP e MIP sobre a superfície da fibra e é possível observar claramente que o PVA atuou como um adesivo na fixação dos polímeros.

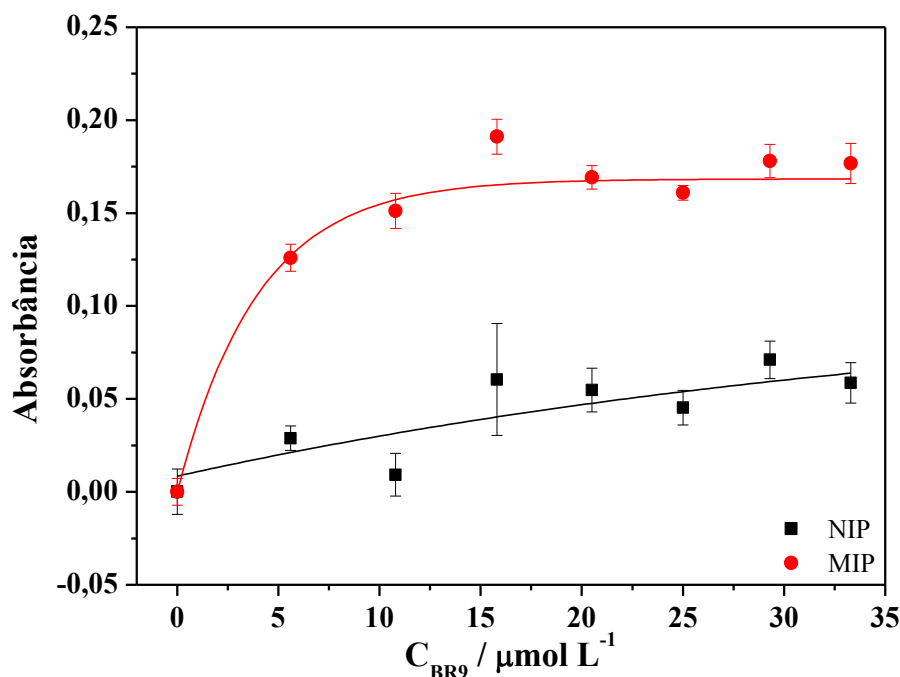
Posteriormente, as análises de ligação do corante BR9 aos polímeros imobilizados foram realizadas com adições sucessivas da solução padrão em água, cuja fibra estava imersa. A cada adição do corante BR9, deixou-se o analito interagir com o polímero durante 10 min sob agitação branda. Conforme apresentado na Figura 64, houve uma significativa diferença entre os valores de absorbância obtidos para o MIP e o NIP. Cabe ressaltar que os valores de absorbância da Figura 64 foram calculados a partir da diferença entre a absorbância obtida após cada adição do corante e a absorbância obtida com o MIP imobilizado antes de qualquer adição de padrão em 545 nm.

Figura 63 - Imagens de FEG-SEM da superfície de fibra óptica de poliestireno recoberta com NIP e MIP com magnificação de 100 (A, B), 3.000 (C, D) e 10.000 (E, F), respectivamente.



Fonte: autor do trabalho.

Figura 64 - Análise da ligação do corante BR9 aos polímeros imobilizados sobre a superfície das fibras ópticas em água.



Fonte: autor do trabalho.

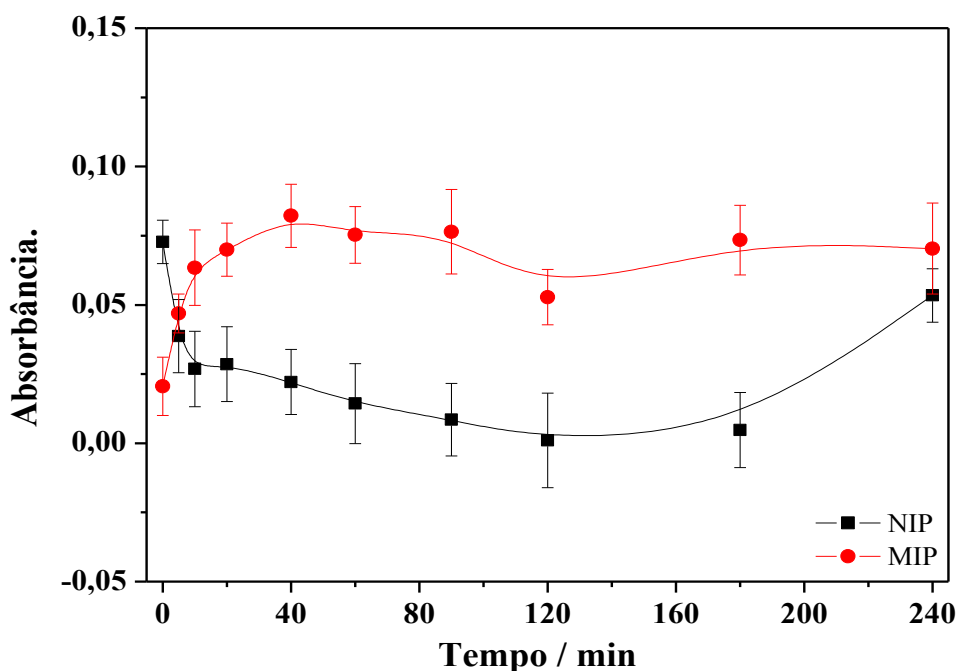
Com esses resultados, foi possível verificar que as cavidades do MIP são mais seletivas quando imobilizados, uma vez que a diferença entre o NIP e o MIP foram superiores que a encontrada com os polímeros em solução.

A interação altamente específica do corante ao MIP provavelmente é devido às medidas diretas, uma vez que foi analisada a quantidade de luz absorvida pelo corante que está ligada ao MIP. Por outro lado, quando os polímeros estão em solução, as medidas são analisadas indiretamente, ou seja, a quantidade de corante retido é calculada pela diferença entre a quantidade total de analito e do analito livre em solução.

Outra hipótese para o melhor desempenho do MIP imobilizado sobre a fibra é que as cavidades seletivas ao corante ficam mais expostas e menos aglomeradas quando fixadas as fibras, podendo dessa forma melhorar a ligação do analito às cavidades do MIP.

O tempo de interação entre o corante BR9 e os polímeros imobilizados sobre a fibra óptica também foi avaliado. Conforme apresentado na Figura 65, o corante já é adsorvido ao MIP a partir de 10 min de incubação e a retenção máxima ocorreu a partir de 40 min e a absorbância permaneceu praticamente constante após esse tempo. Portanto, o tempo de incubação empregado nas próximas etapas para a ligação do analito ao MIP será de 40 min a fim de obter uma curva analítica com alta sensibilidade.

Figura 65 - Análise do tempo interação entre o corante BR9 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e os polímeros imobilizados sobre a fibra óptica em água.



Fonte: autor do trabalho.

A imobilização sobre a fibra de poliestireno usando o PVA foi uma etapa desenvolvida durante o doutorado sanduíche na Universidade de Tecnologia de Compiègne (UTC) sob a orientação do Prof. Dr. Karsten Haupt. Apesar dos resultados terem se mostrado satisfatórios e promissores, o fornecimento desta fibra é exclusivo pela empresa que a fabrica e não é comercializada, sendo que uma determinada quantidade da mesma acompanha o equipamento no momento da compra.

Diante disso, para dar continuidade ao trabalho no laboratório do Grupo de Eletroanalítica de Araraquara, foi necessário adaptar a imobilização do MIP sobre um feixe bifurcado de fibras ópticas que o grupo de pesquisa já possuía e adequar ao equipamento que estava disponível no laboratório. Sendo assim, a imobilização do MIP sobre o feixe de fibra óptica foi avaliado por silanização e utilizando esse mesmo procedimento por oclusão.

4.1.23 Estudos preliminares do equipamento óptico

Para a análise da imobilização do MIP sobre a fibra óptica bifurcada de vidro um equipamento óptico da Oriel que o Grupo de Eletroanalítica de Araraquara já possuía seria empregado. No entanto, o equipamento não era utilizado há alguns anos e, mesmo depois de muito esforço para reativar o equipamento, chegou-se a conclusão que apresenta defeitos

técnicos no monocromador e na fotomultiplicadora, porém a fonte radiométrica e a fonte de tensão estavam funcionando corretamente.

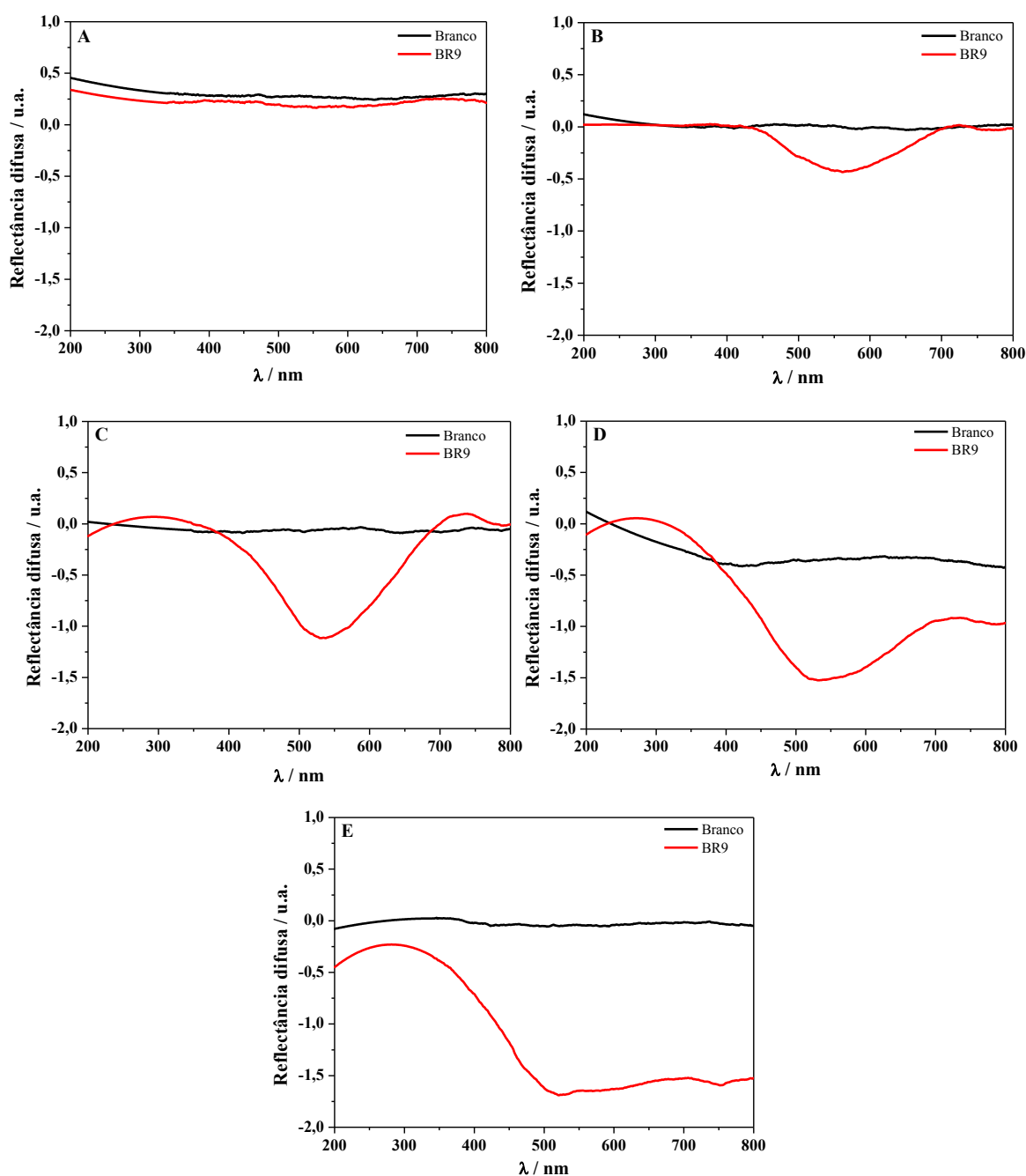
Diante disto, fez-se uma adaptação no espectrofotômetro UV-Vis com arranjo linear de diodo da Hewlett Packard modelo 8453, utilizando o detector do espectrofotômetro e a fonte de radiação externa da Oriel. A fonte de radiação externa foi utilizada porque a intensidade do feixe de luz fornecido pelo espectrofotômetro não é suficiente para percorrer toda a fibra óptica e ser monitorada pelo detector. Sendo assim, uma extremidade da fibra óptica bifurcada foi acoplada à fonte de radiação (Figura 11A), a outra ao espectrofotômetro (Figura 11C) para o monitoramento do sinal analítico que atravessa o polímero imobilizado contendo o corante presente na amostra adsorvido (Figura 11B).

Como foi empregada uma fonte de luz externa que possibilita trabalhar com diferentes valores de potência da lâmpada, foi necessário, inicialmente, analisar qual seria a melhor potência para o monitoramento do corante BR9.

Para isso, diferentes valores de potência de luz foram aplicados a uma amostra contendo somente água (branco) e a uma amostra com o corante BR9 na concentração $200 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo os resultados apresentados na Figura 66.

Pode-se observar que utilizando a lâmpada com potência de 15 W (Figura 66A) não foi possível obter sinal de absorbância, enquanto que com 75 W (Figura 66D) e 100 W (Figura 66E) já houve saturação do sinal na região do visível. As potências de 30 W (Figura 66B) e 50 W (Figura 66C) apresentaram uma banda bem definida na região de 545 nm, que é o comprimento de onda característico do corante BR9. No entanto, como a potência de 50 W apresentou maior valor de absorbância frente a 30 W, escolheu-se para as próximas etapas a potência de 50 W.

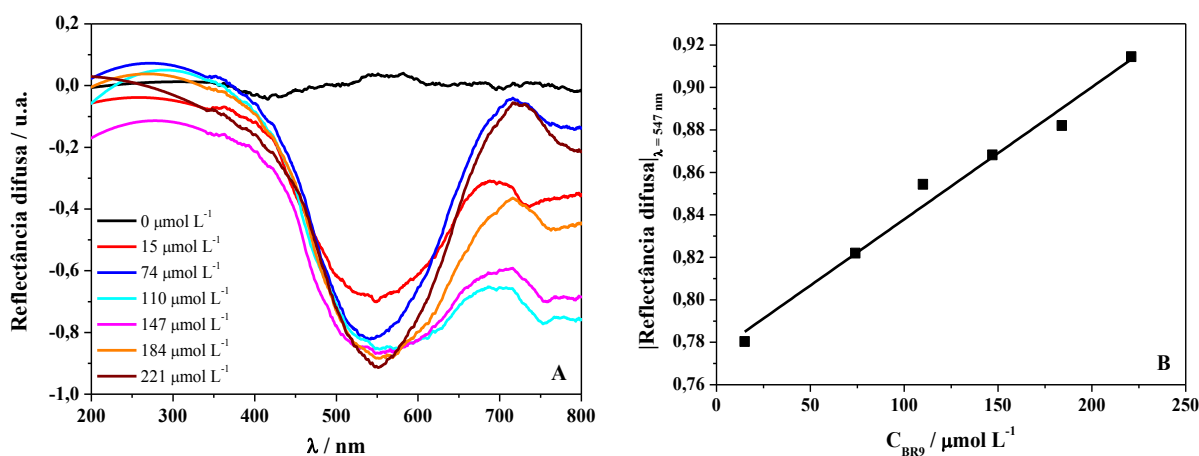
Figura 66 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica para o monitoramento com diferentes intensidades de luz: (A) 15 W; (B) 30 W; (C) 50 W; (D) 75 W e (E) 100 W.



Fonte: autor do trabalho.

Para verificar se o sistema óptico apresentaria um sinal analítico quantitativo, diferentes concentrações do corante BR9 foram monitoradas por meio de medidas de reflectância difusa para a obtenção de uma curva analítica, cujo resultado é apresentado na Figura 67.

Figura 67 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica para o monitoramento (A). Curva analítica da reflectância difusa em 547 nm em função da concentração do corante BR9 (B).



Fonte: autor do trabalho.

Observa-se que a curva analítica não apresentou uma linearidade muito boa ($r^2 = 0,97813$). No entanto, pode ser considerado um resultado positivo, uma vez que se verificou que existe uma relação entre o valor de reflectância difusa e a concentração do corante no intervalo estudado (de 15 a 220 μmol L⁻¹).

$$RD = 0,776(\pm 0,006) + 622(\pm 42) C_{BR9} \quad (\text{Equação 6})$$

Outro aspecto que deve ser levado em consideração é que, para o trabalho em questão, o importante é a investigação do polímero imobilizado sobre a fibra óptica. Por isso, as próximas etapas serão seguidas sem a otimização deste resultado. O dado aqui mostrado foi apenas para obter uma referência da resposta do sistema óptico ao analito.

4.1.24 Imobilização do MIP sobre a fibra óptica bifurcada por oclusão utilizando PVA

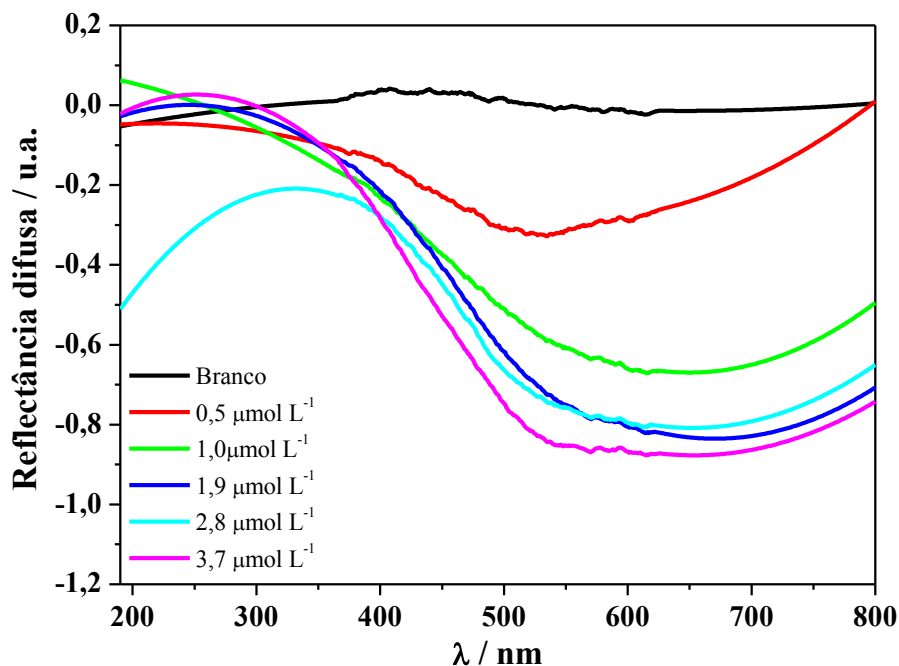
Como os resultados obtidos na imobilização da fibra de poliestireno por oclusão utilizando o PVA foram satisfatórios, essa mesma a imobilização do MIP foi avaliada empregando a fibra óptica bifurcada de vidro.

Desta forma, após a imobilização dos polímeros sobre a fibra óptica, as análises de ligação foram realizadas com adições sucessivas da solução padrão do corante em água. A cada adição do corante BR9, deixou-se o analito interagir com o polímero imobilizado à fibra durante 10 min sob agitação suave.

Como pode ser observado na Figura 68, a concentração de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ apresentou uma banda larga de reflectância difusa na região de 540 nm. Contudo, à medida que se aumentou a concentração do corante, essa banda se intensificou e alargou-se. Adicionalmente, o valor de reflectância difusa manteve-se praticamente constante a partir da terceira adição da solução padrão.

Diante desse resultado, acreditou-se que a concentração do analito empregada estava ultrapassando o intervalo linear, uma vez que houve a saturação do sinal logo na terceira adição. Por essa razão, uma nova imobilização do MIP foi realizada e a religação analisada, porém empregando concentrações mais baixas do corante BR9.

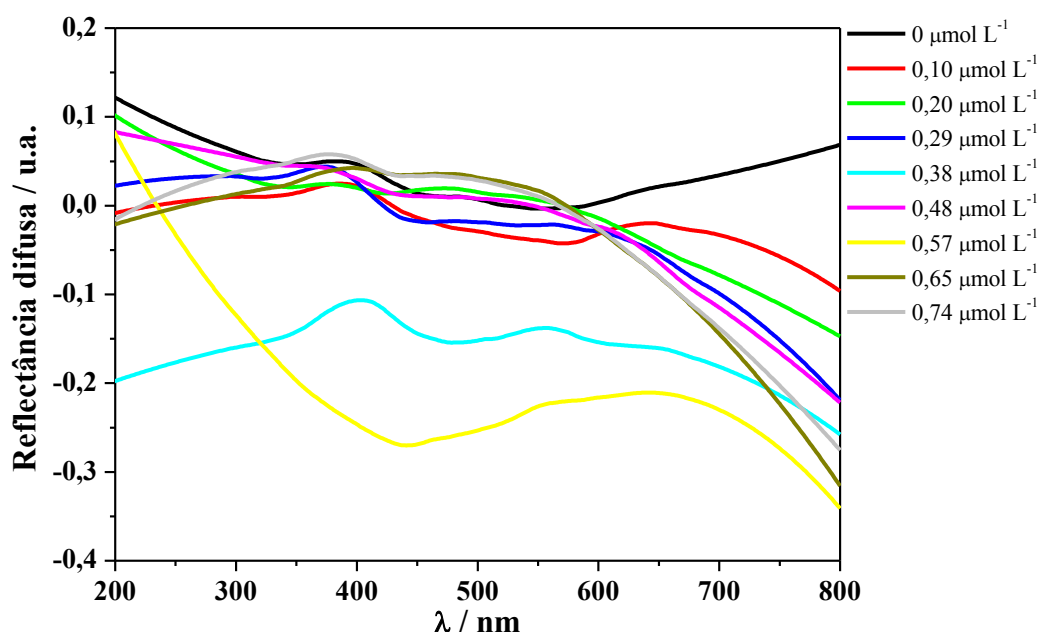
Figura 68 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica bifurcada de vidro com o MIP imobilizado via oclusão com PVA, sendo o branco do equipamento adquirido com a fibra já com o MIP imobilizado antes de qualquer adição da solução padrão.



Fonte: autor do trabalho.

A religação do corante BR9, em concentrações mais baixas, ao polímero impresso não apresentou linearidade, como mostrado na Figura 69. Somente a concentração de $0,57 \mu\text{mol L}^{-1}$ apresentou banda de reflectância difusa na região de 440 nm. Enquanto que as demais concentrações apresentaram comportamento praticamente constante e próximo ao branco, sendo que apenas a partir de 620 nm houve aumento na intensidade de reflectância difusa.

Figura 69 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica bifurcada de vidro com o MIP imobilizado via oclusão com PVA, sendo o branco do equipamento adquirido com a fibra já com o MIP imobilizado antes de qualquer adição da solução padrão.



Fonte: autor do trabalho.

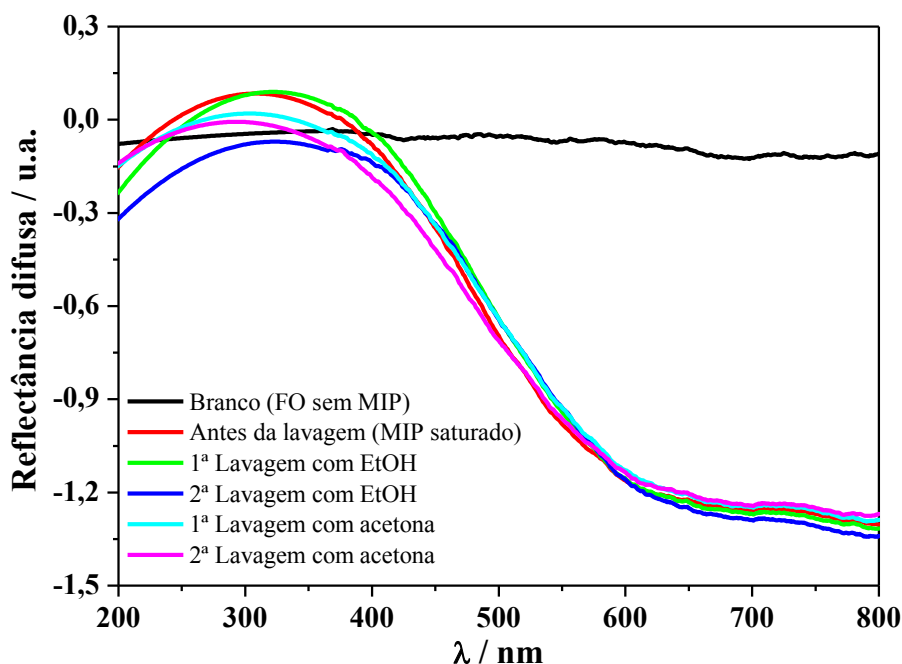
Este mesmo estudo foi repetido mais duas vezes e notou-se que, embora o protocolo para a imobilização do MIP fosse realizado sempre da mesma maneira, a modificação ficou visivelmente diferente, isto é, havia a formação de uma camada ora mais espessa, ora mais fina.

Concluiu-se, então, que a reprodutibilidade desta imobilização do MIP sobre a fibra óptica bifurcada de vidro não foi tão eficiente quanto à imobilização realizada sobre fibra de poliestireno. Provavelmente essa diferença é devido à fibra óptica empregada. Pois quando a imobilização ocorreu sobre a fibra de poliestireno, o polímero ficou em contato direto com toda a superfície da fibra, propiciando a medida do sinal evanescente. Enquanto que a fibra óptica de vidro consistia num feixe de fibras, o que impedia a imobilização do MIP na superfície da fibra, com isso ocorreu, basicamente, modificação somente na ponta das fibras, diminuindo a quantidade de material imobilizado e consequentemente a concentração de corante religado foi menor, ocasionando em uma menor intensidade do sinal a ser monitorada.

Apesar desta imobilização não ter apresentado resultados satisfatórios, a remoção do corante das cavidades poliméricas foi analisada apenas a título de curiosidade. Para isso, após a imobilização do MIP, a extremidade modificada da fibra bifurcada foi imersa em uma solução de alta concentração do corante BR9 ($200 \mu\text{mol L}^{-1}$) durante 30 min e realizada uma medida de absorbância. Em seguida, esta extremidade da fibra foi deixada em etanol absoluto

durante 15 min por duas vezes e o mesmo procedimento foi realizado também em acetona. No intervalo entre cada uma dessas lavagens, visando à remoção do analito das cavidades seletivas do MIP, foram realizadas medidas de reflectância difusa, cujo resultado pode ser observado na Figura 70.

Figura 70 - Espectros de reflectância difusa na região do UV-Vis da fibra óptica sem o MIP imobilizado (—), com o MIP imobilizado via oclusão com PVA após religação do corante BR9 ao MIP (—), após a primeira (—) e segunda (—) lavagem com etanol, seguida de uma (—) e duas (—) lavagens com acetona.



Fonte: autor do trabalho.

Pode-se observar que não houve diferença no espectro independentemente do solvente utilizado para a remoção do corante, mostrando que a adsorção do corante ao MIP ou à própria fibra é muito forte. Sendo assim, uma nova metodologia para a imobilização do polímero sobre a fibra foi avaliada e descrita a seguir.

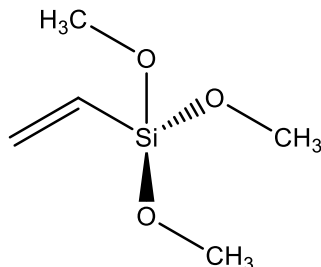
4.1.25 Imobilização do MIP sobre a fibra óptica bifurcada por silanização

4.1.25.1 Utilizando o VTES como agente silanizante

Uma vez que a imobilização do MIP sobre a fibra óptica bifurcada via oclusão não mostrou resultados satisfatórios, optou-se em realizar a imobilização por meio da silanização da fibra empregando, inicialmente, o VTES como agente silanizante, cuja estrutura é

apresentada na Figura 71, seguida da síntese do polímero impresso diretamente sobre a superfície silanizada.

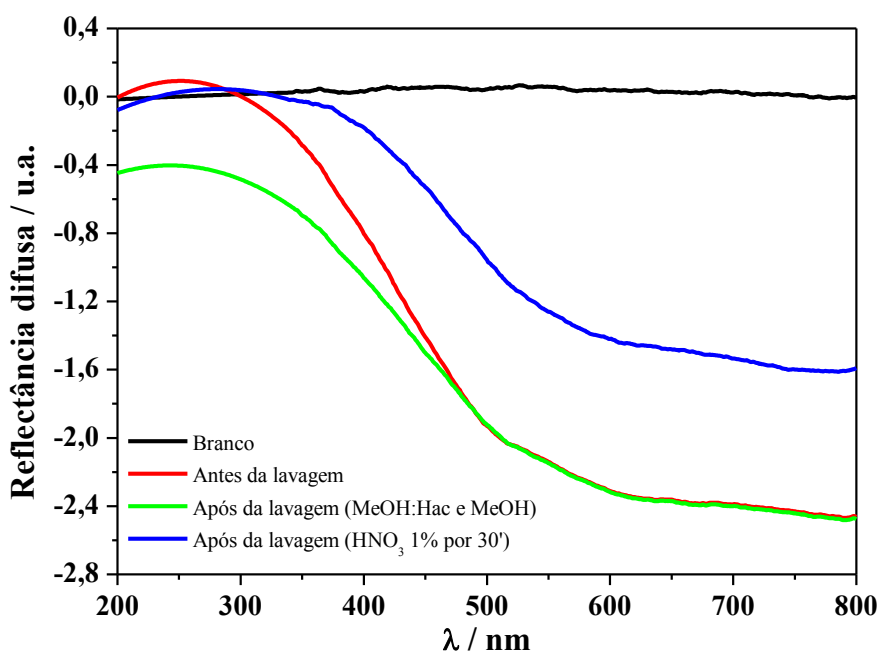
Figura 71 - Estrutura do agente silanizante VTES.



Fonte: estrutura baseada no site da empresa Sigma-Aldrich®.

Para verificar a eficiência da remoção da molécula molde foram realizadas medidas espectrofotométricas de cada uma das etapas: da fibra sem modificação, após a polimerização do MIP sobre a fibra silanizada e após as lavagens para remoção da molécula molde (Figura 72).

Figura 72 - Espectros de reflectância difusa na região do UV-Vis da fibra óptica sem o MIP imobilizado (—), com o MIP imobilizado via silanização com VTES antes da remoção da molécula molde (—), após três lavagens sucessivas com metanol/ácido acético (7:3) e uma lavagem em metanol (—) e após a lavagem anterior mais lavagem em HNO₃ 1,0% durante 30 min sob agitação (—).



Fonte: autor do trabalho.

Observa-se que a lavagem somente com metanol e ácido acético não foi eficiente, pois apresentou intensidade semelhante ao espectro da fibra após a polimerização. Já, quando

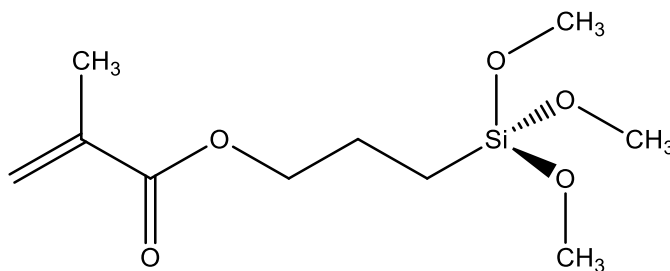
lavado com ácido nítrico, houve significativa diminuição na intensidade de reflectância difusa, porém ainda apresentou alto valor de reflectância na região do visível, inviabilizando a realização da quantificação do corante BR9 quando for religado ao MIP.

Nas diversas imobilizações realizadas desta mesma maneira, o resultado apresentado foi semelhante. Por isso, optou-se por empregar um agente silanizante diferente.

4.1.25.2 Imobilização por silanização utilizando MPS

Como alternativa para a imobilização do MIP sobre o feixe bifurcado de fibras ópticas, realizou-se a silanização de uma das extremidades da fibra utilizando o MPS (estrutura apresentada na Figura 73) como agente silanizante. Como no caso anterior (seção 4.1.24.1), seguiu-se com a síntese do polímero impresso diretamente sobre a superfície silanizada.

Figura 73 - Estrutura do agente silanizante MPS.

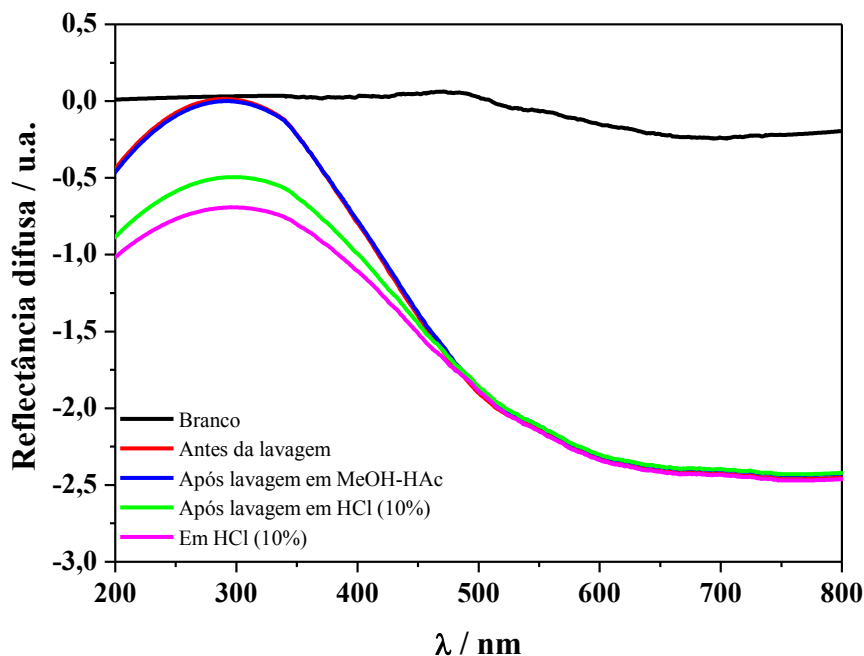


Fonte: estrutura baseada no site da empresa Sigma-Aldrich®.

Inicialmente foi analisada a eficiência na remoção do corante BR9 da estrutura polimérica com um mistura de metanol e ácido acético (7:3) e com 10% de ácido clorídrico (Figura 74).

No entanto, da mesma forma que os resultados obtidos com o VTES, quando a silanização foi realizada com MPS não houve diminuição na intensidade de reflectância nem mesmo quando a lavagem foi realizada com HCl. Tentou-se ainda monitorar a reflectância com a fibra imersa diretamente na solução de HCl 10% ao invés de água, uma vez que em soluções ácidas o corante apresenta-se incolor. Contudo, o espectro obtido foi semelhante aos anteriores.

Figura 74 - Espectros de reflectância difusa na região do UV-Vis da fibra óptica sem o MIP imobilizado (—), com o MIP imobilizado via silanização com MPS antes da remoção da molécula molde (—), após três lavagens sucessivas com metanol/ácido acético na proporção 7:3 (—) e após a lavagem anterior mais lavagem em HNO₃ 10% (—), sendo todas essas medidas realizadas com a fibra imersa em água; e com a extremidade da fibra modificada, após todas as lavagens anteriores, imersa em HCl 10% (—).



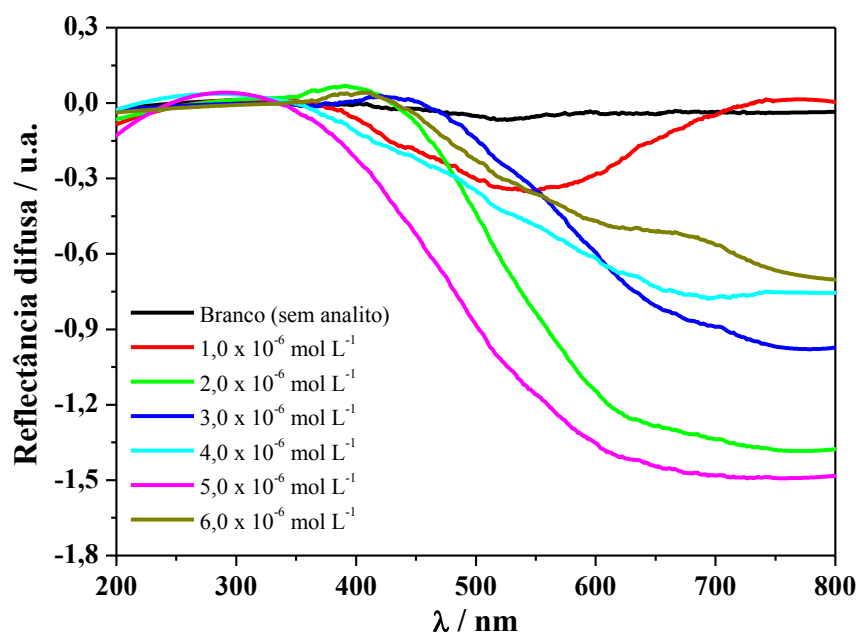
Fonte: autor do trabalho.

Mesmo não obtendo sucesso na lavagem da fibra modificada com MIP, foi realizado um experimento para observar a eficiência de religação do corante ao MIP, a partir de adições sucessivas da solução padrão do analito e com tempo de equilíbrio de 10 min sobre agitação (Figura 75). Neste caso, o branco estabelecido no espectrofotômetro foi a fibra óptica modificada após a etapa de sucessivas lavagens descrita acima.

Observa-se que somente a menor concentração analisada ($1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) apresentou uma banda de reflectância difusa na região de 540 nm, já as demais concentrações apresentaram comportamento aleatório e saturação do sinal.

Uma hipótese para a dificuldade na remoção do corante e o comportamento aleatório apresentado nos resultados é que o analito está se adsorvendo fortemente à fibra óptica e não ao polímero. Esta suspeita surgiu pelo fato de que, mesmo após sucessivas lavagens e com diferentes solventes e ácidos, é possível observar que a fibra, e não o polímero, continua com uma coloração rosada.

Figura 75 - Espectros de reflectância difusa na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante BR9 dissolvido em água empregando a fibra óptica com o MIP imobilizado via silanização com MPS, sendo o branco do equipamento adquirido com a fibra já com o MIP imobilizado após a remoção da molécula molde da estrutura polimérica.



Fonte: autor do trabalho.

Depois de exaustivas tentativas em imobilizar o MIP no feixe de fibras ópticas de vidro, concluiu-se que as metodologias não eram eficientes. O Grupo de Eletroanalítica adquiriu recentemente um novo espectrofotômetro que possui módulo próprio para fibra óptica. Então, estudos já estão sendo realizados para adaptar este equipamento para o sensoriamento óptico, onde o objetivo é acoplar uma fibra óptica ao sistema de fibra ópticas do próprio equipamento e realizar a imobilização do MIP por oclusão, de maneira análoga ao descrito na seção 3.10.1.

4.2 MIP para o corante verde ácido 16 (AG16)

Para o corante AG16 foram avaliadas duas diferentes sínteses de MIP, onde se variou as proporções entre o MM, MF e ME (1:3:20 e 1:3:200), sendo que o 1VI foi empregado como MF para ambas as sínteses. As subseções do tópico 4.2 discutem os estudos de religação, caracterização dos polímeros, seletividade e aplicação em amostra de efluente.

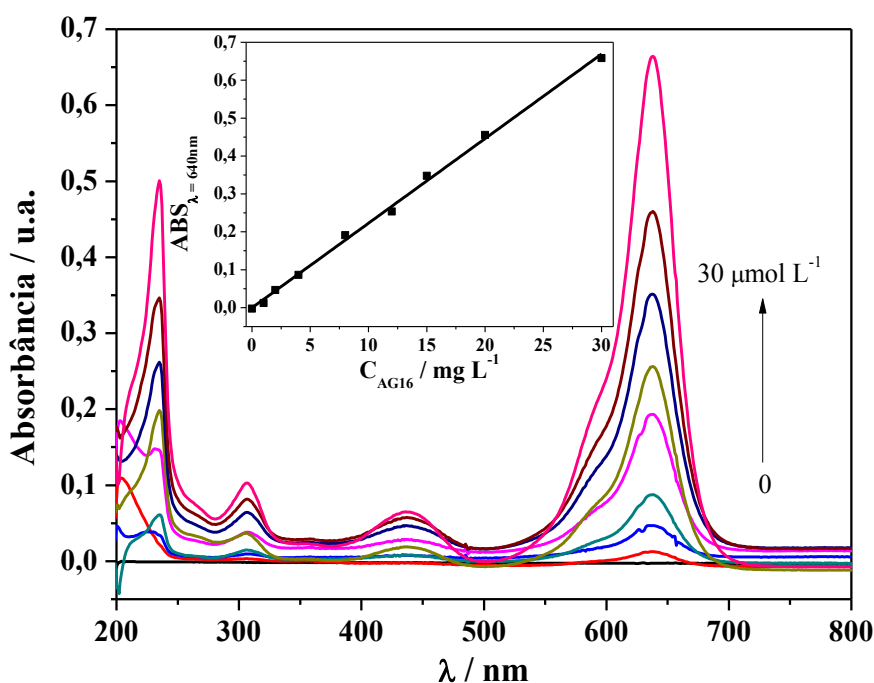
4.2.1 Espectro de absorbância e curva analítica

Para verificar comprimento de onda no qual é encontrado o máximo de absorbância do corante AG16 e obter a região de concentração que apresenta resposta linear, diferentes concentrações deste corante foram monitoradas por espectrofotometria na região UV-Vis.

Pelos espectros de absorbância mostrados na Figura 76, verifica-se que a banda referente ao grupo cromóforo, o trifenilmetano, é encontrado na região de 640 nm. Construindo uma curva analítica com a absorbância nesse comprimento de onda em função da concentração do corante, observa-se um comportamento linear no intervalo de 0 a 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e coeficiente de correlação igual a 0,99757.

$$\text{Abs} = -5,18 \times 10^{-4} (\pm 0,5 \times 10^{-4}) + 22322 (\pm 389) C_{\text{AG16}} \quad (\text{Equação 7})$$

Figura 76 - Espectros de absorbância na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante AG16 dissolvido em água. *Inset*: Curva analítica referente à absorbância em 640 nm.



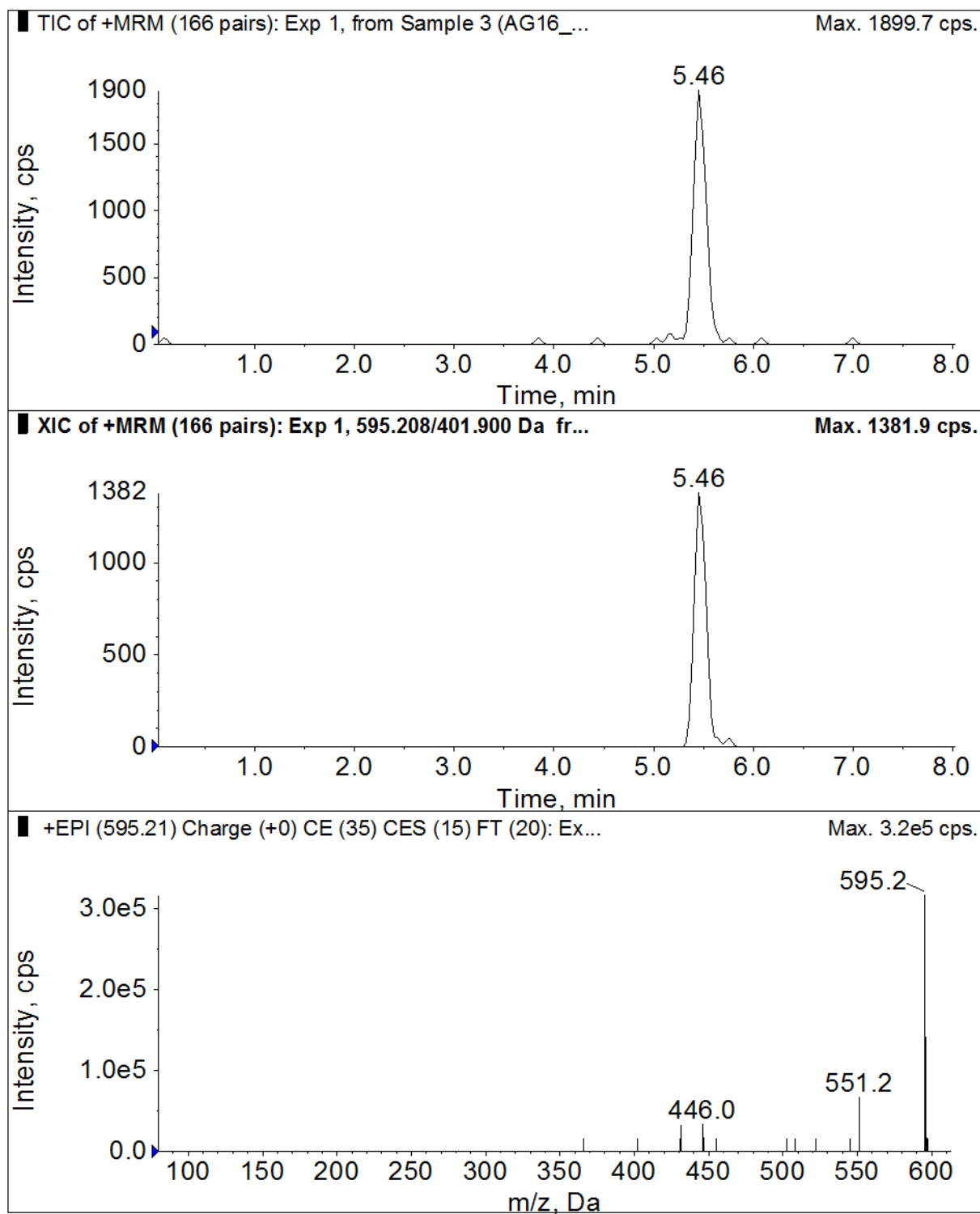
Fonte: autor do trabalho.

4.2.2 Análise da degradação do corante AG16 por CLAE-EM

A estabilidade do corante AG16 foi avaliada a partir do preparo de uma solução do corante na concentração de 10 mg mL^{-1} em água deionizada. Esta solução foi deixada exposta à luz solar natural durante 7 (Figura 78) e 20 dias (Figura 79) e finalmente as soluções foram analisadas por CLAE-EM. O sinal cromatográfico e a fragmentação dos íons destas soluções

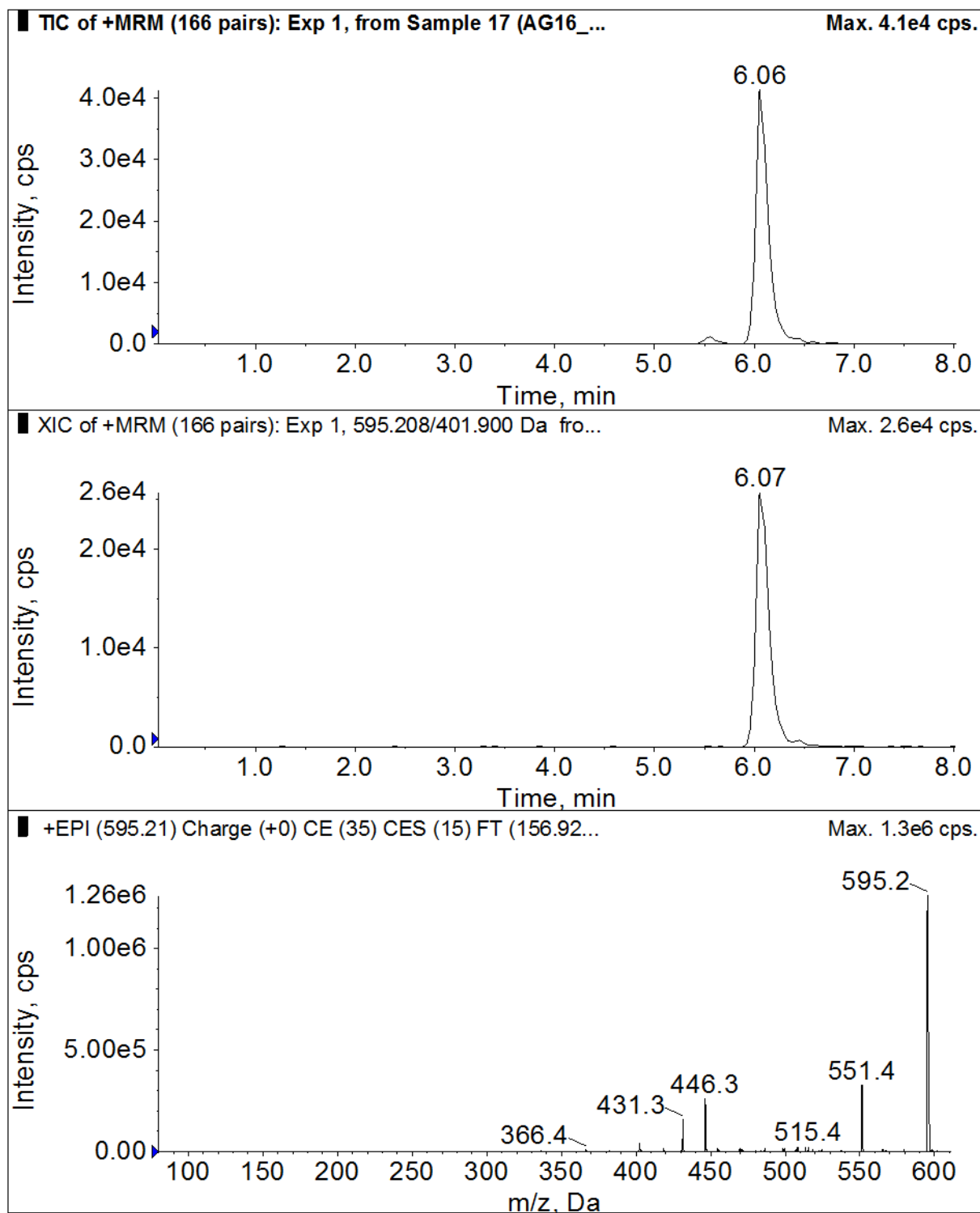
do corante foram comparadas com uma solução padrão do corante AG16 recém-preparada na concentração de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 77).

Figura 77 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 595 (AG16) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 595 em 5,46 min para o padrão AG16.



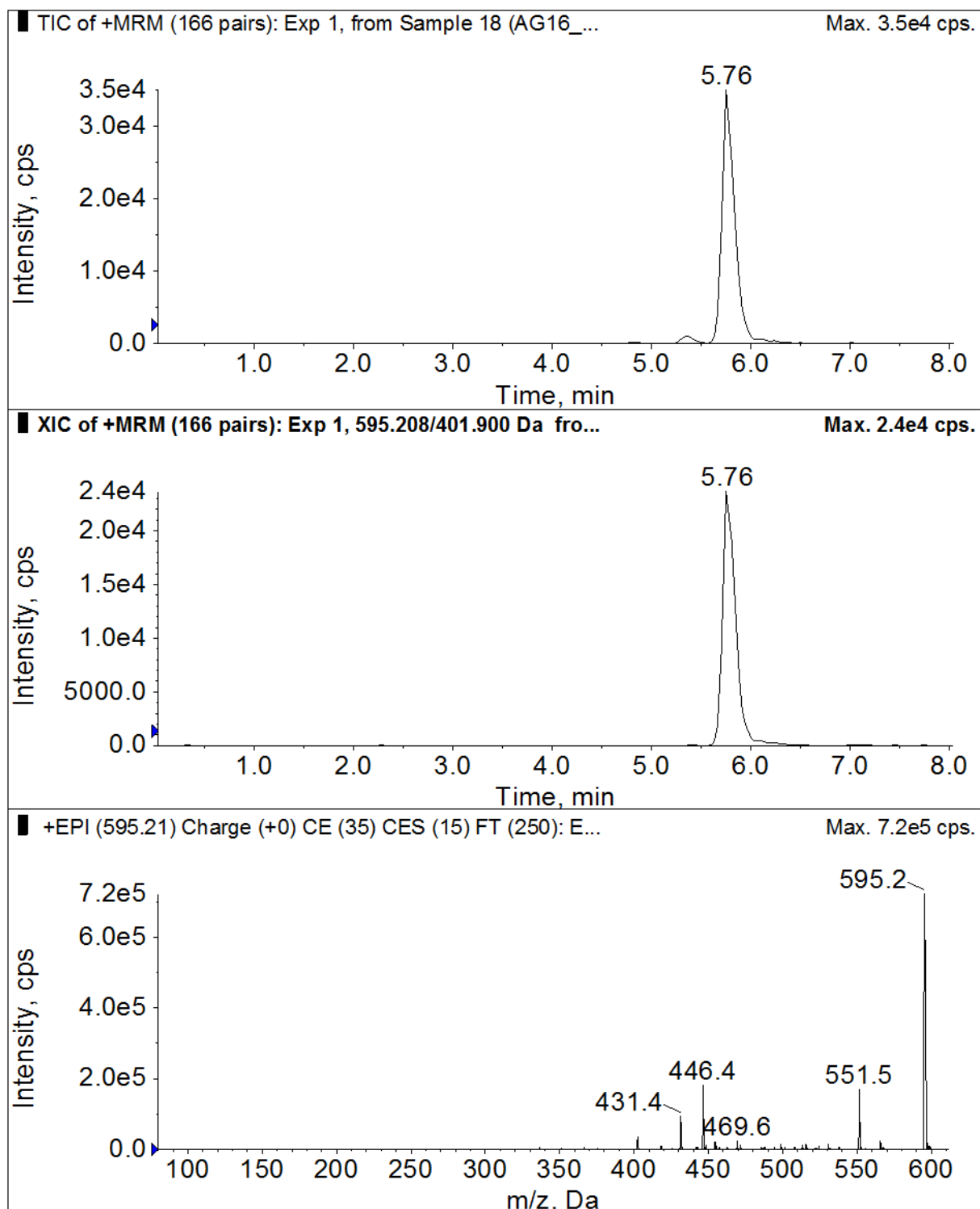
Fonte: autor do trabalho.

Figura 78 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 595 (AG16) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 595 em 6,07 min para a solução de corante AG16 exposta à luz solar por 7 dias.



Fonte: autor do trabalho.

Figura 79 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 595 (AG16) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 595 em 5,76 min para a solução de corante AG16 exposta à luz solar por 20 dias.



Fonte: autor do trabalho.

Apesar dos picos cromatográficos terem apresentado uma ligeira diferença no tempo de retenção em cada uma das análises, os espectros do íon fragmentado mostraram m/z de 595 que é referente ao corante AG16. Desta forma, pode-se afirmar que o corante AG16 está

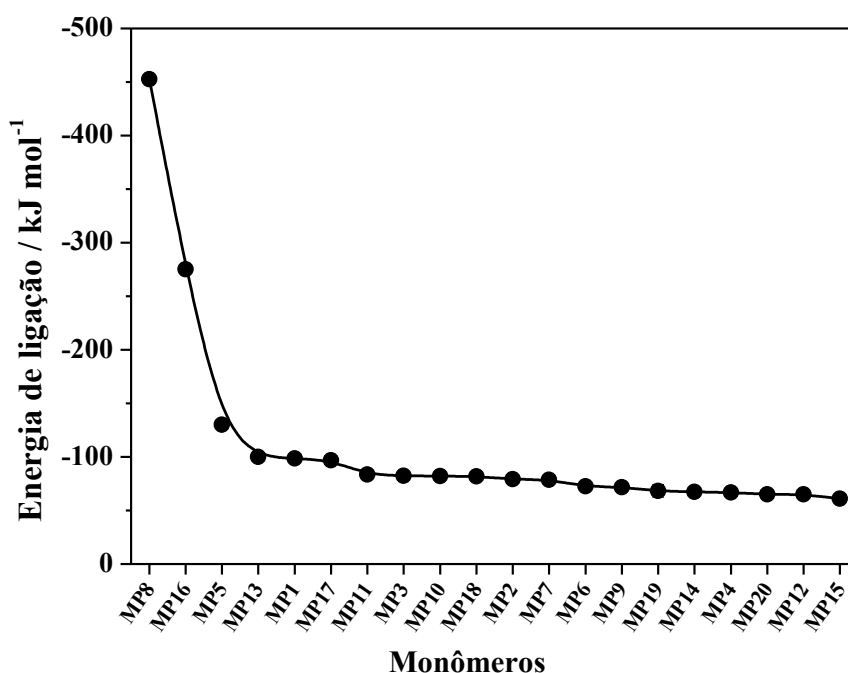
presente na amostra mesmo após 20 dias de exposição solar. A diferença encontrada no tempo de retenção dos picos deve-se, provavelmente, a alguma alteração na carga da molécula que retarda a eluição.

Um aspecto importante a ser observado no resultado obtido para esse corante é a intensidade do pico nos cromatogramas após 7 e 20 dias de exposição ao sol. Pois não há diminuição significativa na quantidade de corante entre essas duas análises, mostrando que praticamente não há degradação deste composto. Destacando, assim, a grande importância no desenvolvimento de uma metodologia que permita a determinação desse corante em matrizes ambientais, uma vez que representa um poluente persistente e tóxico.

4.2.3 Simulação computacional

A partir da simulação computacional, a interação do corante AG16 com os 20 monômeros comerciais mais utilizados para a síntese de MIP (Tabela 1) foi analisada e o gráfico que apresenta o resultado da energia de ligação entre o corante e cada monômero é apresentado na Figura 80.

Figura 80 - Média dos resultados das simulações realizadas para avaliar a energia da interação entre três diferentes conformêros do corante verde ácido 16 com os 20 monômeros propostos (Tabela 1).



Fonte: autor do trabalho.

Como se pode observar, os monômeros acrilonitrila (MP8) e 1-vinilimidazol (MP16) são os que apresentam maior energia de ligação, ou seja, são os monômeros com melhor

interação com o analito. Enquanto que os monômeros estireno (MP15), ácido metacrílico (MP12), 2-hidroxietil metacrilato (MP20), ácido acrílico (MP4), e 4-divinilbenzeno (MP14) são os que apresentam menor energia de ligação, respectivamente.

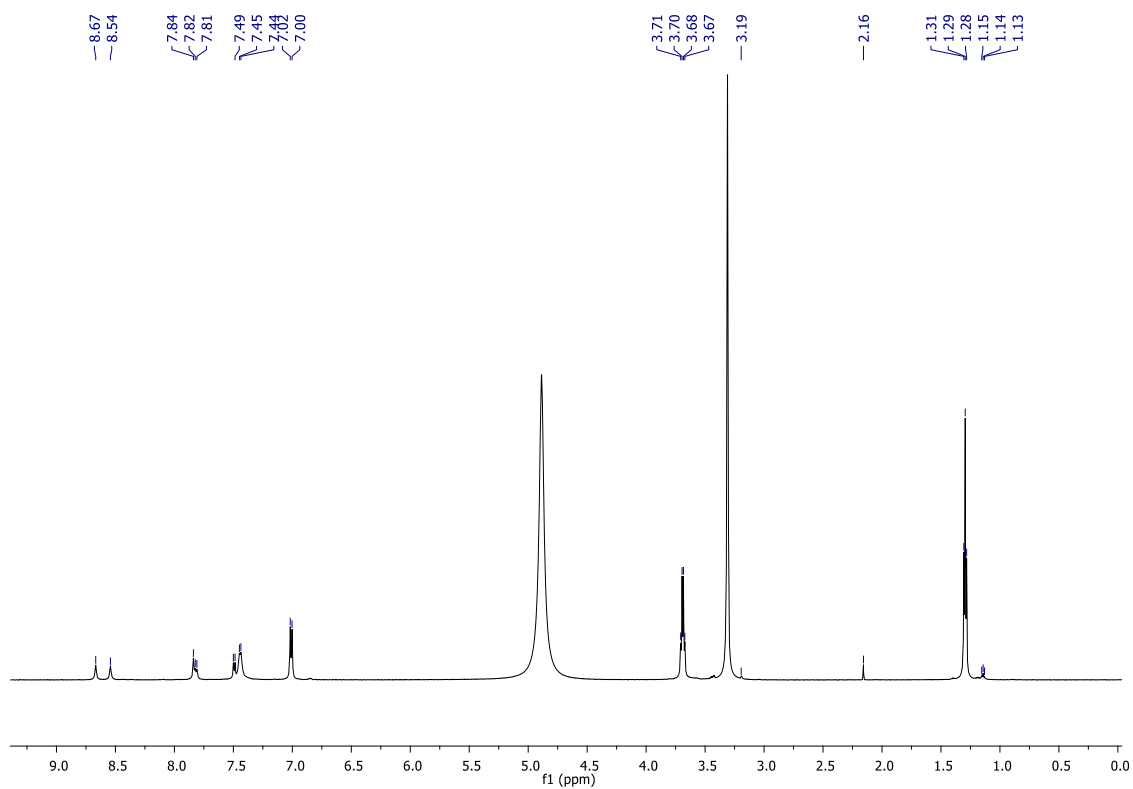
Embora o MP8 tenha apresentado a maior energia de ligação, ele não foi empregado na síntese do MIP, visto que a interação entre analito e monômero poderia ser muito forte e, conseqüentemente, dificultar a remoção do analito das cavidades do MIP. Dessa forma, utilizou-se na etapa de síntese o monômero MP16, o qual apresenta caráter básico, o que favorece a interação eletrostática com o analito.

4.2.4 Avaliação da interação entre AG16 e 1VI por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

A análise da interação que ocorre entre o corante AG16 e o monômero funcional 1VI foi realizada por medidas de RMN. Para isso, foram preparadas três soluções distintas em 700 μL de MeOH-d_4 : 8,0 mg de AG16; 8,0 mg de 1VI e uma mistura entre AG16 e 1VI, na proporção 3:1, de forma que totalizasse 8 mg. Neste caso, não foi empregada a mesma proporção da síntese do polímero entre MM e MF (1:3), pois o espectro resultante dessa análise não apresentou os sinais do corante AG16, estes ficaram encobertos pela alta intensidade dos sinais do monômero 1VI (dados não apresentados). Desta forma, uma maior massa de corante em relação ao monômero funcional foi utilizada.

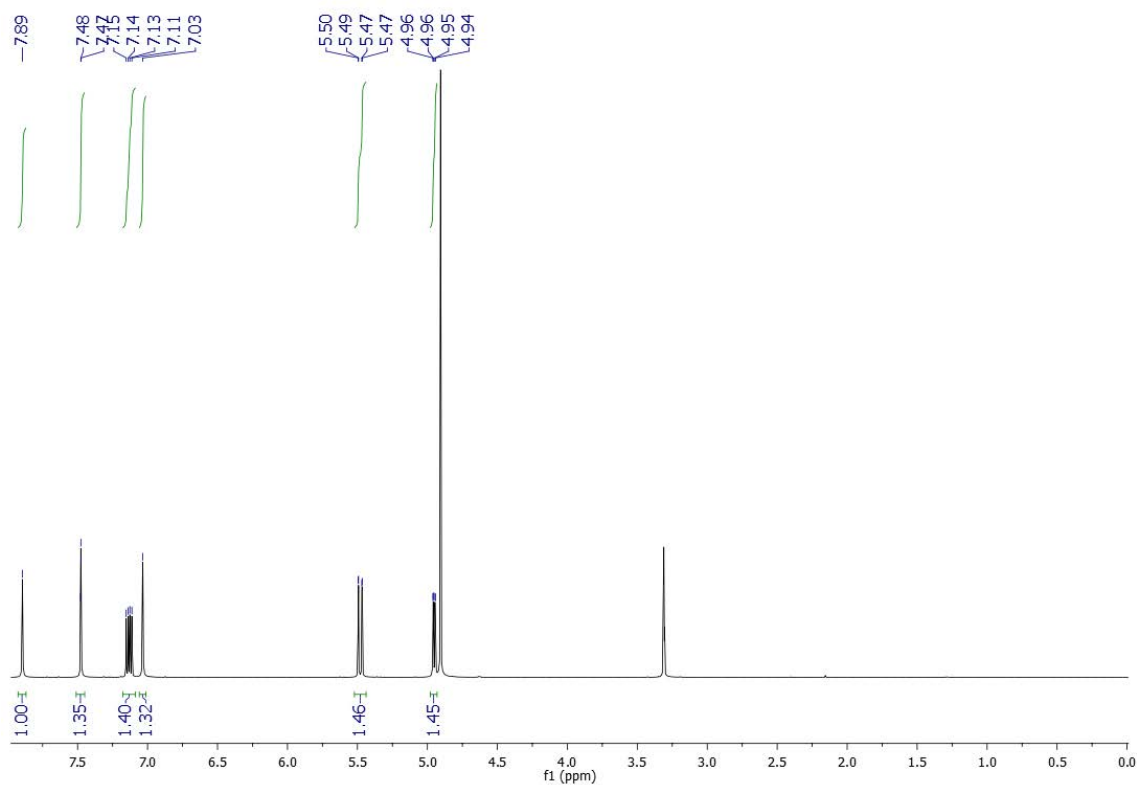
Foram realizados estudos de RMN de ^1H e ^{13}C , cujos espectros estão apresentados da Figura 81 a Figura 88.

Figura 81 - Espectro de RMN de ^1H do corante AG16 (MeOH- d_4 , 600 MHz).



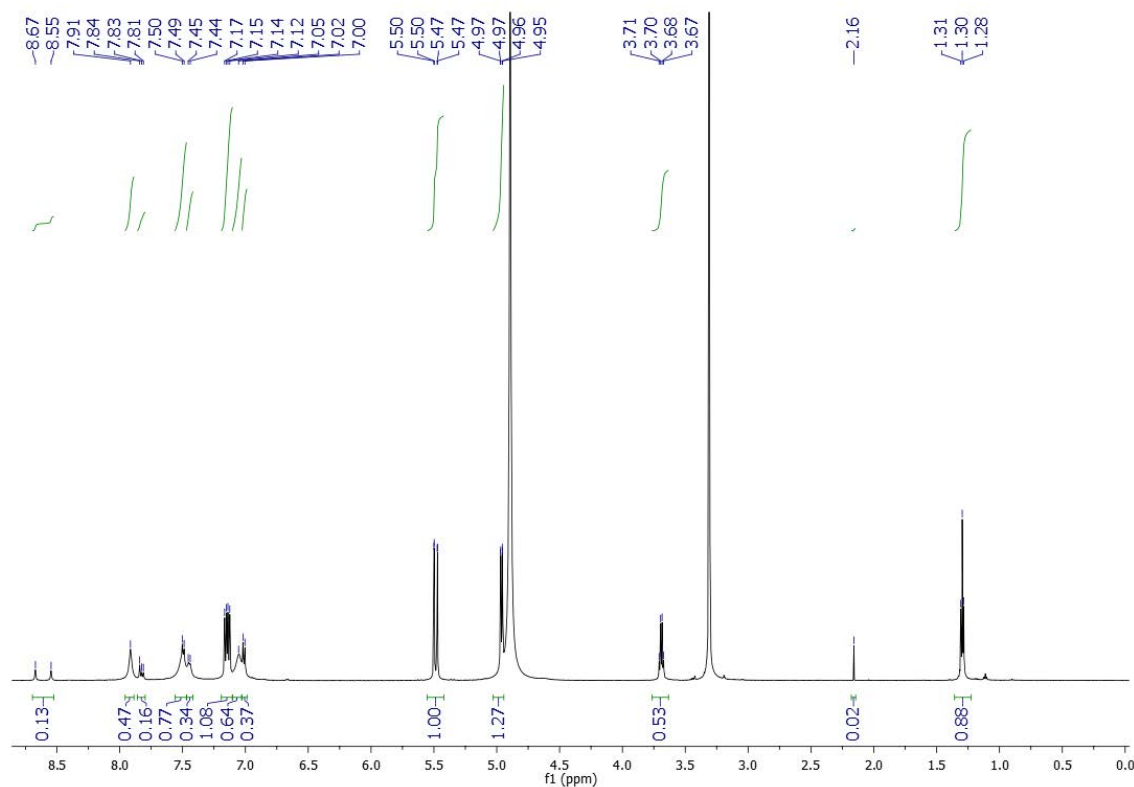
Fonte: autor do trabalho.

Figura 82 - Espectro de RMN ^1H do monômero funcional 1VI (MeOH- d_4 , 600 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

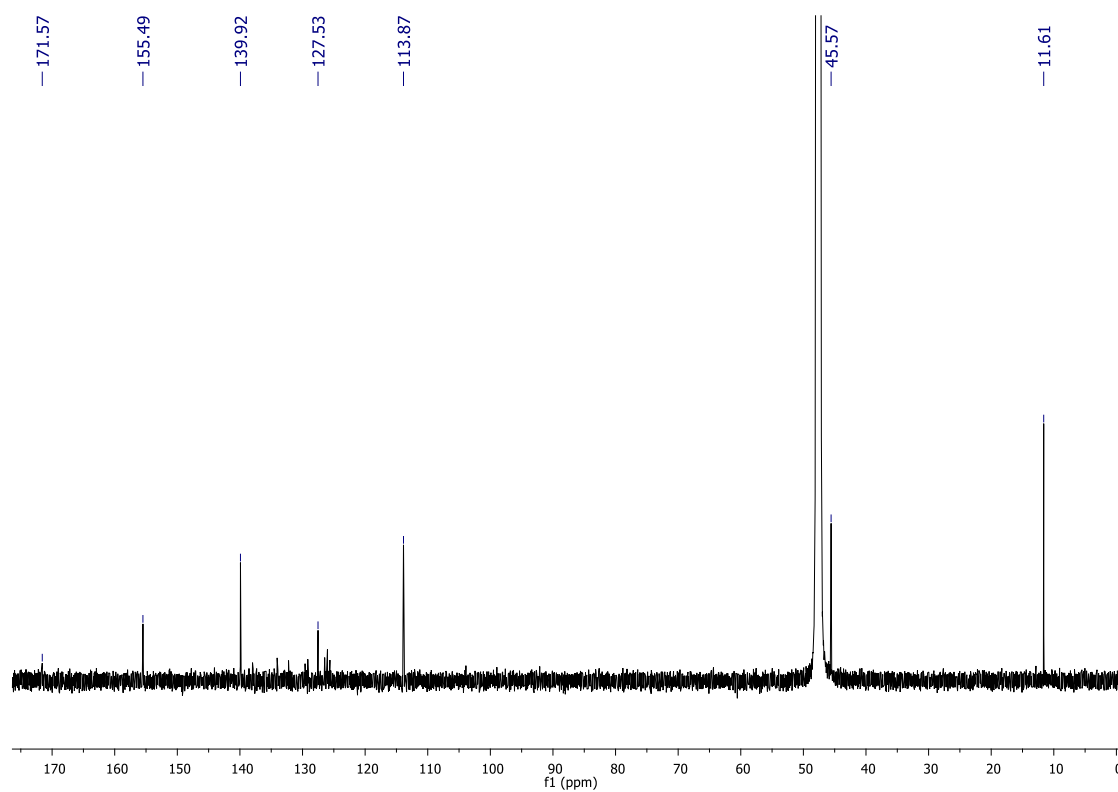
Figura 83 - Espectro de RMN de ^1H da mistura do corante AG16 com o monômero funcional 1VI (MeOH- d_4 , 600 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

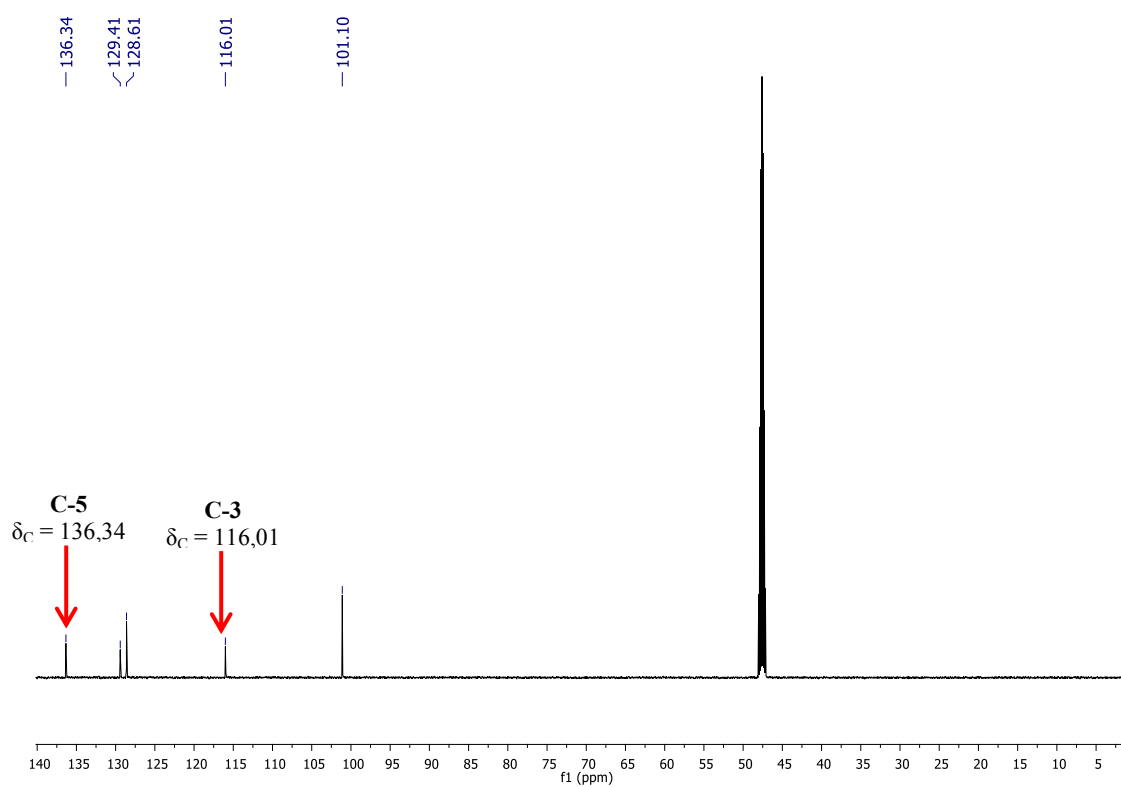
Como observado pelos espectros de RMN de ^1H , não houve deslocamento significativo nos sinais do monômero nem do corante quando foram misturados. Tornando-se, assim, inconclusivo o tipo de interação que ocorre entre estes compostos. Por isso, optou-se em analisar o RMN de ^{13}C destas mesmas soluções.

Figura 84 - Espectro de RMN de ^{13}C do corante AG16 (MeOH-d_4 , 600 MHz).



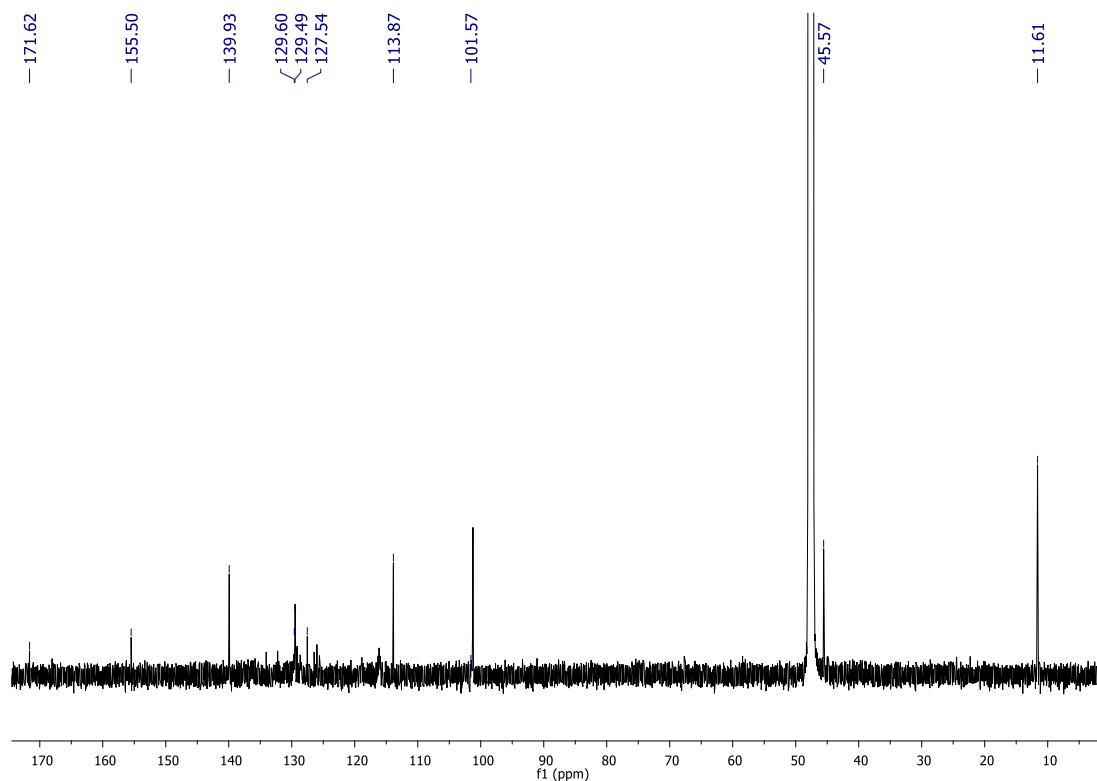
Fonte: autor do trabalho.

Figura 85 - Espectro de RMN de ^{13}C do monômero funcional 1VI (MeOH-d_4 , 600 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

Figura 86 - Espectro de RMN de ^{13}C da mistura do corante AG16 com o monômero funcional 1VI (MeOH- d_4 , 600 MHz).



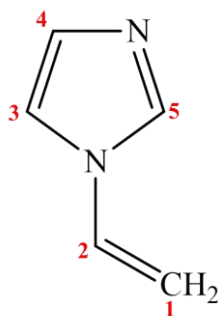
Fonte: autor do trabalho.

A partir dos espectros de RMN de ^{13}C , verificou-se que pode haver interação entre as duas moléculas, pois dois sinais característicos do monômero 1VI não foram observados no espectro quando corante e monômero foram misturados (Figura 86). Os sinais não observados são referentes ao C-3 e C-5 (Figura 87). No entanto, para uma melhor conclusão dos resultados, a mistura desses compostos foi submetida a uma nova análise, mas agora utilizando um maior tempo de relaxação durante a medida, 6 segundos (Figura 88).

A medida de RMN consiste na aplicação de um pulso ao sistema em frequência de ressonância. Após a aplicação desse pulso, os núcleos excedentes ficam excitados no estado de spin mais alto e, ao mesmo tempo em que relaxam ou retornam ao estado de spin mais baixo e ao equilíbrio, o sinal é gerado e obtido para produzir o espectro (110).

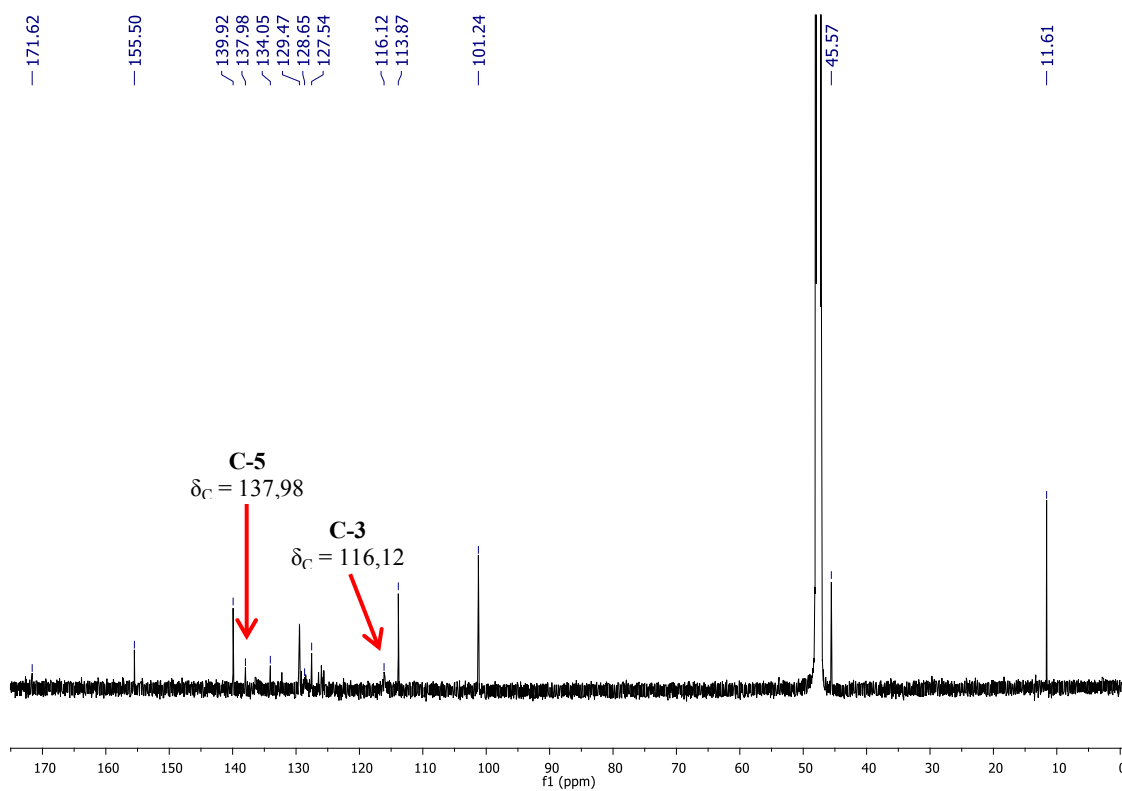
Provavelmente, os sinais desses carbonos não apareceram devido ao tempo de relaxação da medida realizada estar baixo (2 segundos), pois o spin não teve tempo de retornar ao seu estado relaxado e, conseqüentemente, não apresentando sinal no espectro da Figura 86.

Figura 87 - Atribuição dos carbonos e hidrogênios monômero funcional 1VI.



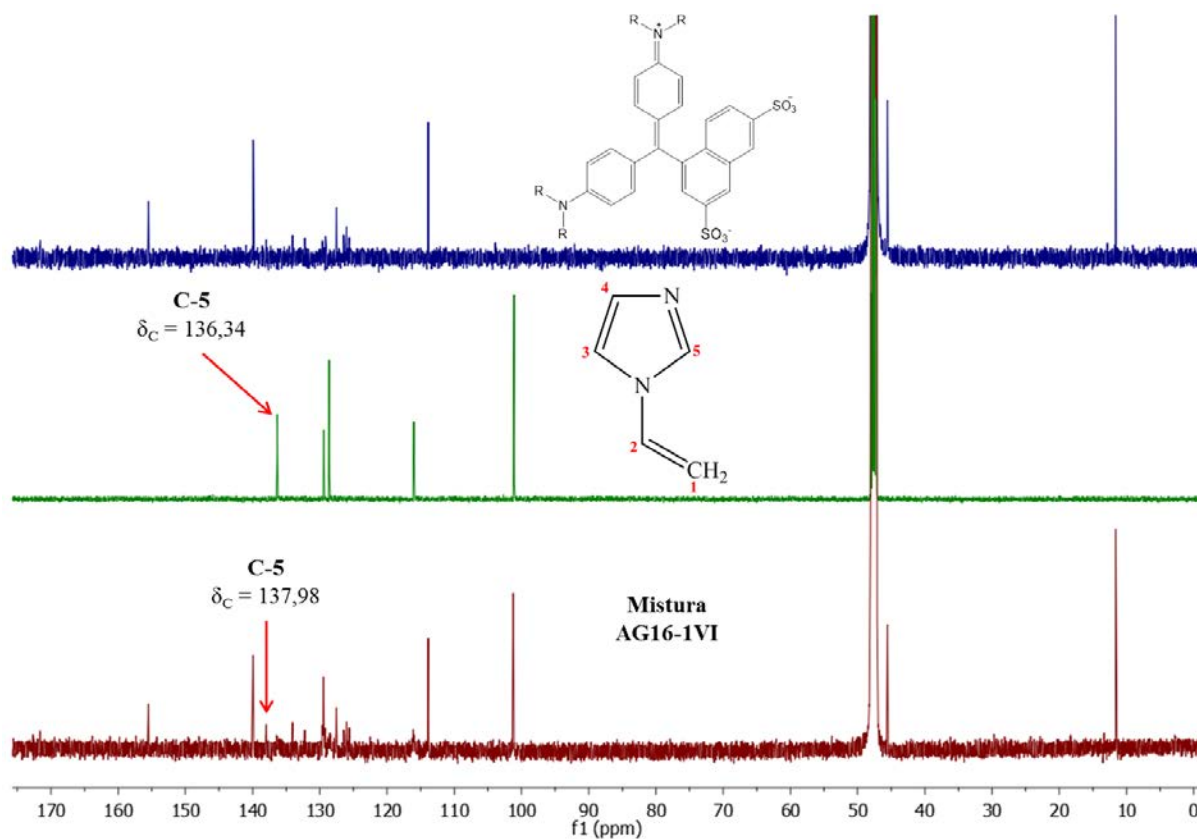
Fonte: autor do trabalho.

Figura 88 - Espectro de RMN de ^{13}C da mistura do corante AG16 com o monômero funcional 1VI com 6 segundos de relaxação (MeOH- d_4 , 600 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

Figura 89 - Espectros de RMN de ^{13}C do corante AG16 (azul), do monômero funcional 1VI (verde) e da mistura AG16-1VI (vermelho) (MeOH-d_4 , 600 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

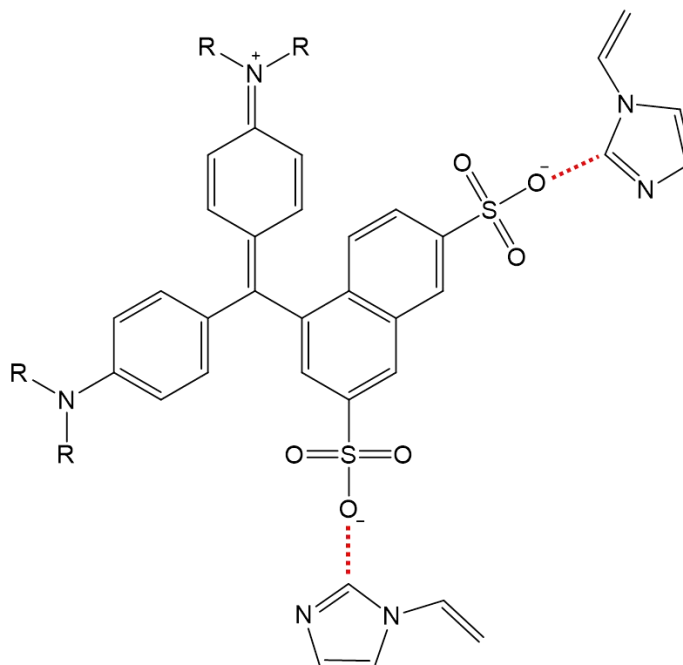
Realizando a análise com 6 segundos como tempo de relaxação foi possível obter o sinal dos C-3 e C-5 do 1-vinylimidazol. Com esses resultados e avaliando os deslocamentos químicos dos sinais (Figura 89), foi possível concluir que ocorre uma interação íon-dipolo entre o corante AG16 e 1VI.

A interação ocorre entre o C-5 do monômero 1VI, cuja densidade eletrônica é atraída pelos átomos de nitrogênio adjacente, resultando em uma carga parcial positiva neste carbono. Os grupos sulfonatos do corante AG16, que possui cargas negativas, são atraídos pela carga parcial positiva do 1VI, possibilitando dessa maneira a interação íon-dipolo entre esses compostos. A proposta da interação entre o corante AG16 e o monômero 1VI é representada na Figura 90.

Esse resultado justifica a razão pela qual não foi possível concluir a partir dos espectros de RMN de ^1H como era a interação entre as moléculas, pois o grupo sulfonato do corante AG16, que interage com o monômero não apresenta hidrogênios, consequentemente, não apresentando sinais nessa análise. Já o C-5 do 1VI, apesar de apresentar um átomo de hidrogênio, apresentou um deslocamento pequeno, que foi considerado desprezível quando os

compostos foram misturados. No entanto, apesar de um deslocamento baixo, foi o único hidrogênio do 1VI que apresentou algum deslocamento.

Figura 90 - Proposta para a interação entre AG16-1VI.

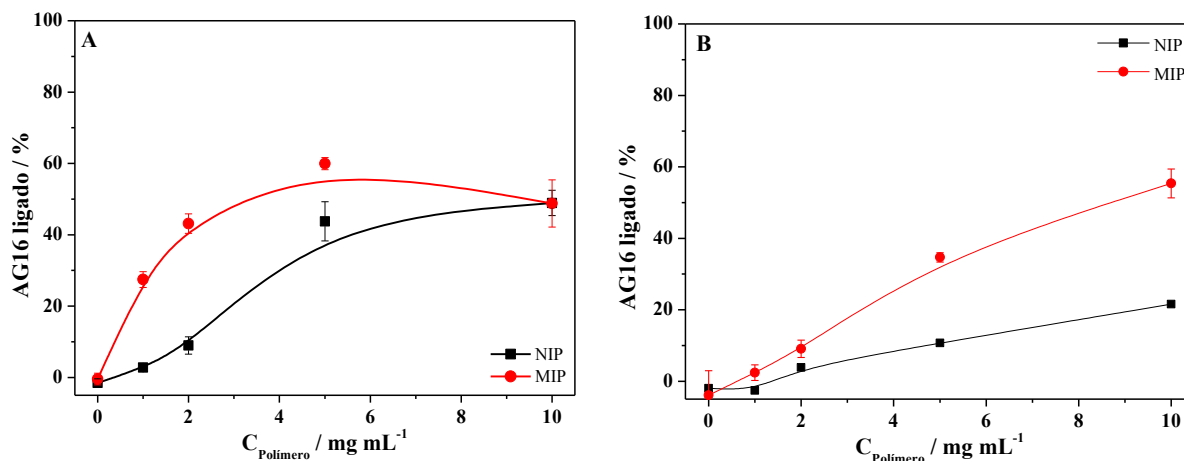


Fonte: autor do trabalho.

4.2.5 Estudo de ligação do corante AG16 aos dois polímeros sintetizados

Para avaliar o desempenho de cada um dos MIP sintetizados para o corante AG16, foi realizado estudo de ligação fixando-se a concentração do corante em $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ e variando a concentração do polímero no meio reacional (Figura 91).

Figura 91 - Análises de religação do corante AG16 aos polímeros com razão molar de (A) 1:3:20 e (B) 1:3:200 de MM:MF:ME. Condições experimentais: concentração do analito de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ em água, tempo de interação de 60 min.



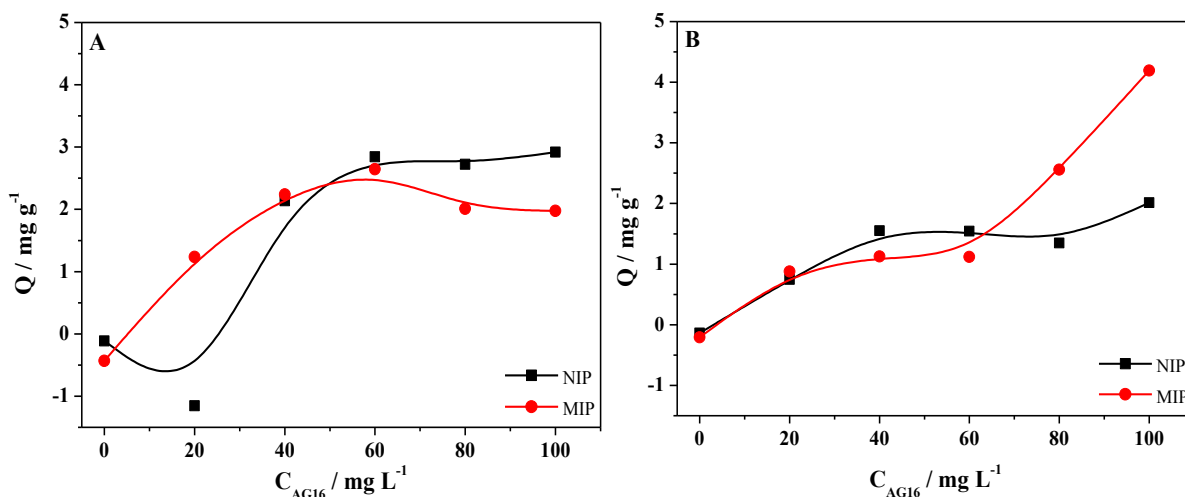
Fonte: autor do trabalho.

Como observado na Figura 91A, o MIP com razão molar 1:3:20 mostrou-se mais específico para menores concentrações de polímero, com aproximadamente 35% de diferença entre NIP e MIP. Entretanto, conforme se aumenta a quantidade de polímero, essa especificidade diminui, uma vez que a porcentagem de ligação do corante ao MIP e NIP se iguala. O polímero com razão molar 1:3:200 (Figura 91B) possui uma maior diferenciação entre MIP e NIP em maiores concentrações de polímero e apresentou uma diferença de porcentagem superior entre MIP e NIP (aproximadamente 30%) em relação ao polímero cuja síntese empregou a razão molar de 1:3:20 em altas concentrações poliméricas. Ademais, o polímero 1:3:200 apresentou maior porcentagem de religação do corante ao MIP (próximo a 60%) do que o outro polímero em estudo.

4.2.6 Isoterma de adsorção do corante AG16 aos dois polímeros sintetizados

Para avaliar o desempenho dos polímeros em diferentes concentrações do corante AG16, foram obtidas as isotermas da Figura 92.

Figura 92 - Isoterma de adsorção do corante AG16 para os polímeros com razão molar de (A) 1:3:20 e (B) 1:3:200 de MM:MF:ME. Condições experimentais: concentração de polímero de 5 mg mL⁻¹ em água e tempo de interação de 60 min.



Fonte: autor do trabalho.

De acordo com Figura 92A, as análises realizadas com os polímeros nas proporções 1:3:20 não foram satisfatórias uma vez que o NIP apresentou maior retenção do corante que o MIP. Provavelmente, a razão para a maior religação ao NIP que ao MIP, deve-se à grande quantidade de grupos funcionais livres na estrutura do polímero, propiciando assim uma maior interação do analito aos grupos reativos na estrutura polimérica de forma inespecífica do que às cavidades seletivas do polímero impresso.

Conforme observado na Figura 92B, os resultados obtidos para a síntese nas proporções 1:3:200 foram satisfatórios, visto que em concentrações mais elevadas a capacidade de retenção para o MIP foi maior e também verificou-se uma diferença significativa entre MIP e NIP. Dessa forma, decidiu-se empregar somente o polímero cuja síntese foi realizada na proporção 1:3:200 para as etapas subsequentes.

4.2.7 Estudo de ligação do corante AG16 ao MIP em diferentes valores de pH

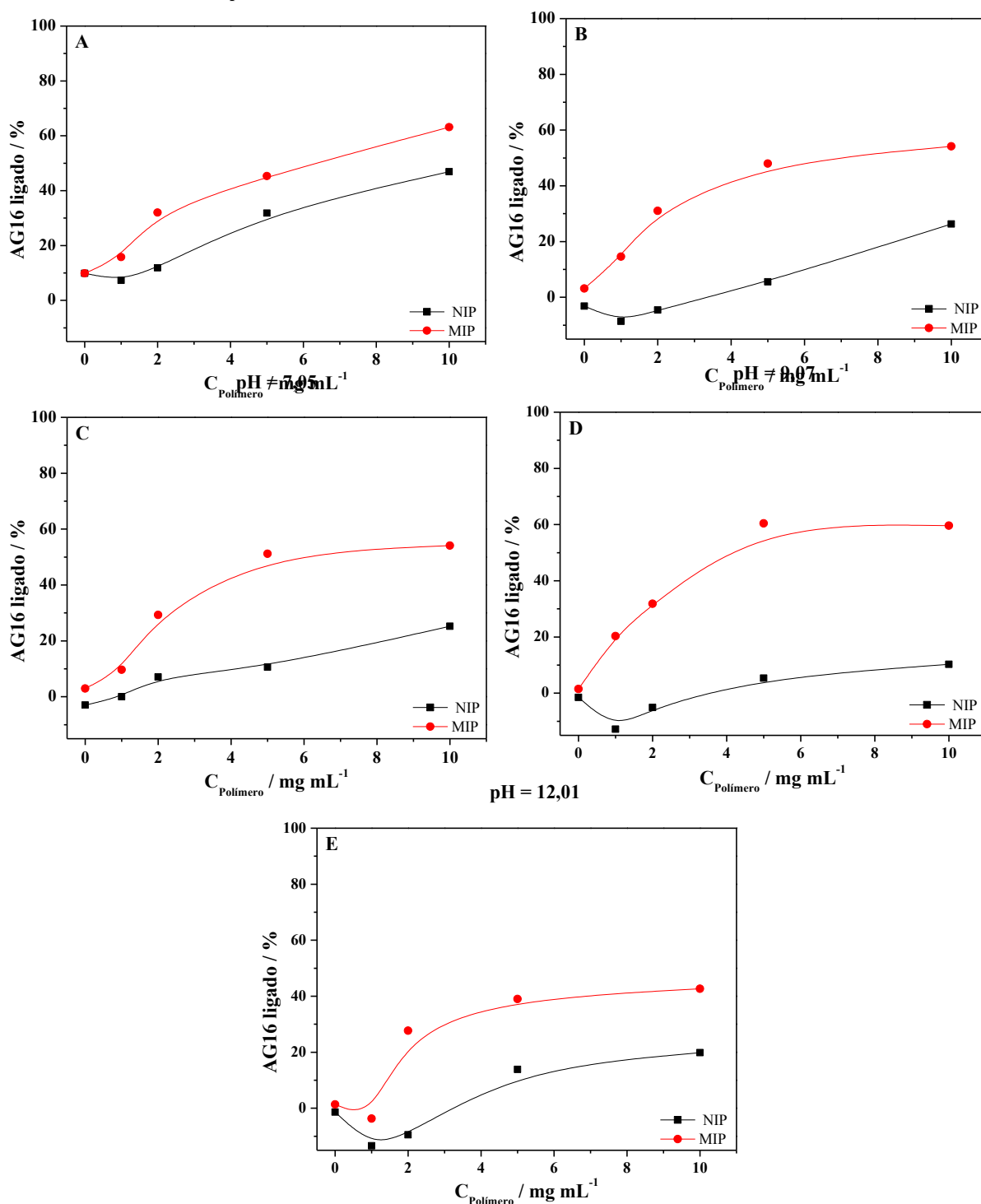
Objetivando melhorar a eficiência de retenção do corante AG16 ao MIP, realizou-se estudo de religação do AG16 aos polímeros em solução tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ com diferentes valores de pH e os resultados são apresentados na Figura 93.

Os valores de pH de 2 e 12 (Figura 93A e Figura 93E) apresentaram resultados inferiores aos obtidos quando a análise foi realizada em água, uma vez que a diferença entre NIP e MIP diminui para aproximadamente 14 e 22%, respectivamente. Além disso, no pH 12, houve a menor porcentagem de ligação do corante ao MIP, próxima a 40%.

Nas Figura 93B e Figura 93C são apresentadas as isotermas para os valores de pH de 5 e 7, onde é possível observar a diferença entre as porcentagens de ligação do NIP e MIP (42 e 40%, respectivamente). No entanto, quando utilizado o pH 9 (Figura 93D), houve uma especificidade superior entre o polímero impresso e o não impresso, equivalente a 55%. Pode-se verificar também que a concentração de 5 mg mL⁻¹ do polímero foi a que apresentou maior diferenciação entre NIP e MIP para os valores de pH de 5, 7 e 9.

Diante destes resultados, nas etapas subsequentes, a interação do corante AG16 ao polímero impresso será realizada em solução tampão B-R 0,04 mol L⁻¹ a pH 9 e com 5 mg mL⁻¹ de polímero.

Figura 93 - Análises de ligação entre o corante AG16 $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o polímero 1:3:200 em solução tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 2 (A), 5 (B), 7 (C), 9 (D) e 12 (E).

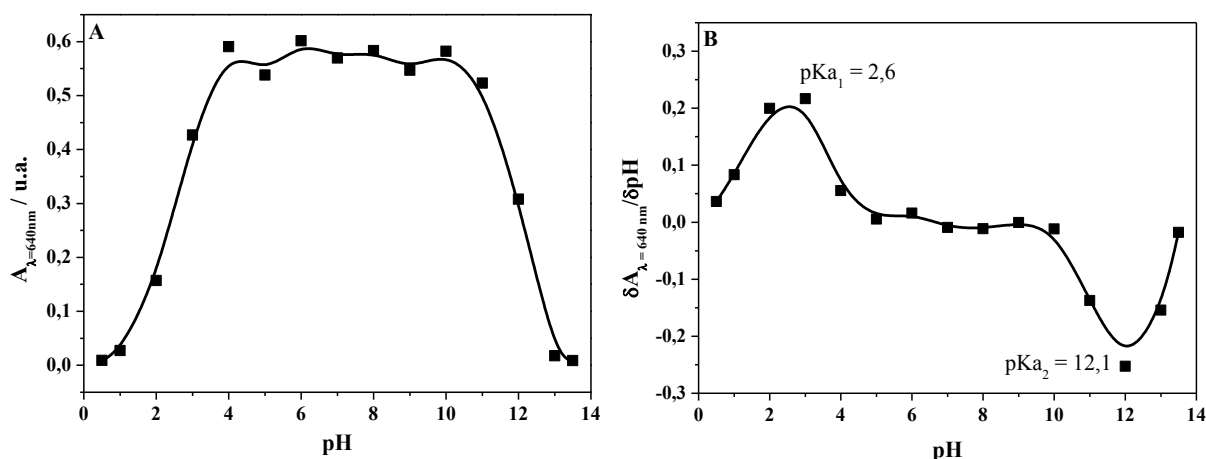


4.2.8 Cálculo do pK_a do corante AG16

A fim de se conhecer melhor as características do corante AG16 foram realizados experimentos para cálculo do pK_a . Para isso, foram preparadas soluções aquosas do corante

em diferentes valores de pH (de 0,5 a 13,5) e fez-se medidas espectrofotométricas no comprimento de onda de 640 nm (Figura 94).

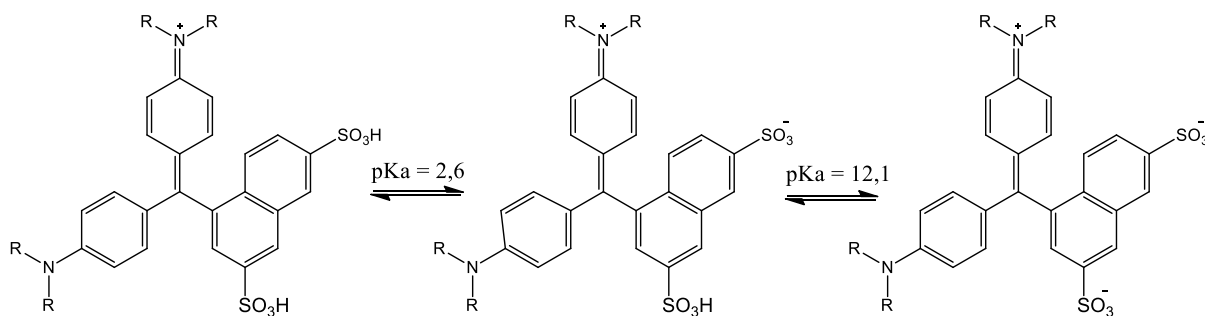
Figura 94 - (A) Curva da absorbância no comprimento de onda de 640 nm em função do pH. (B) Primeira derivada obtida da curva da A.



Fonte: autor do trabalho.

Para o cálculo do pK_a , a curva da absorbância em função do pH (Figura 94A) foi submetida à primeira derivada (Figura 94B) e os pontos máximos foram assumidos como sendo os valores experimentais do pK_a do corante, e pode-se observar dois valores distintos para o pK_a do corante: 2,6 e 12,1. A proposta das estruturas do corante AG16 de acordo com o pK_a é esquematizada na Figura 95.

Figura 95 - Esquema das estruturas do corante AG16 em função do pK_a .



Fonte: autor do trabalho.

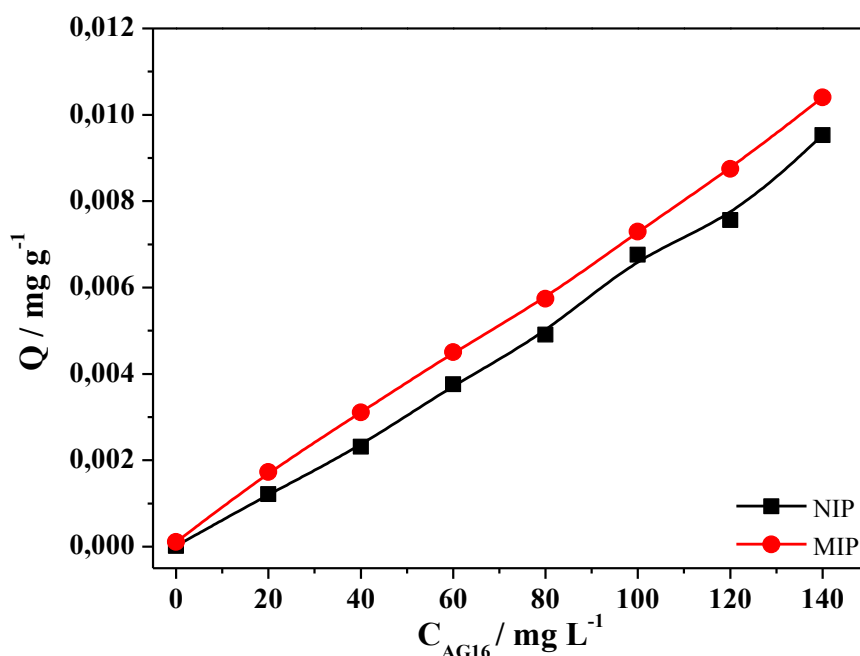
Quando o corante AG16 está em uma solução com pH inferior a 2,6, os grupos sulfonatos apresentam-se protonados e a amina terciária carregada positivamente. No intervalo de pH compreendido entre 2,6 e 12,1, somente um dos grupos sulfonatos sofre desprotonação. Enquanto que quando a solução do corante possui valor de pH superior a 12,1, ambos os grupos sulfonatos encontram-se desprotonados e a amina terciária mantém a carga positiva.

Portanto, em pH 9,0 o corante apresenta carga negativa no grupo sulfonato possibilitando a interação íon-dipolo com o monômero funcional (1VI), conforme mostrado no estudo por RMN descrito na seção 4.2.3.

4.2.9 Isoterma de adsorção com ajuste de pH do MIP para AG16

Depois de otimizado o valor do pH da solução tampão B-R a pH 9,0, um novo estudo de religação do corante aos polímeros foi realizando nas condição otimizada, por meio da construção de uma curva de isoterma (Figura 96).

Figura 96 - Isoterma de adsorção do corante AG16 aos polímeros. Condições experimentais: concentração polimérica de 5 mg mL⁻¹ em solução tampão B-R a pH 9 e tempo de interação 60 min.



Fonte: autor do trabalho.

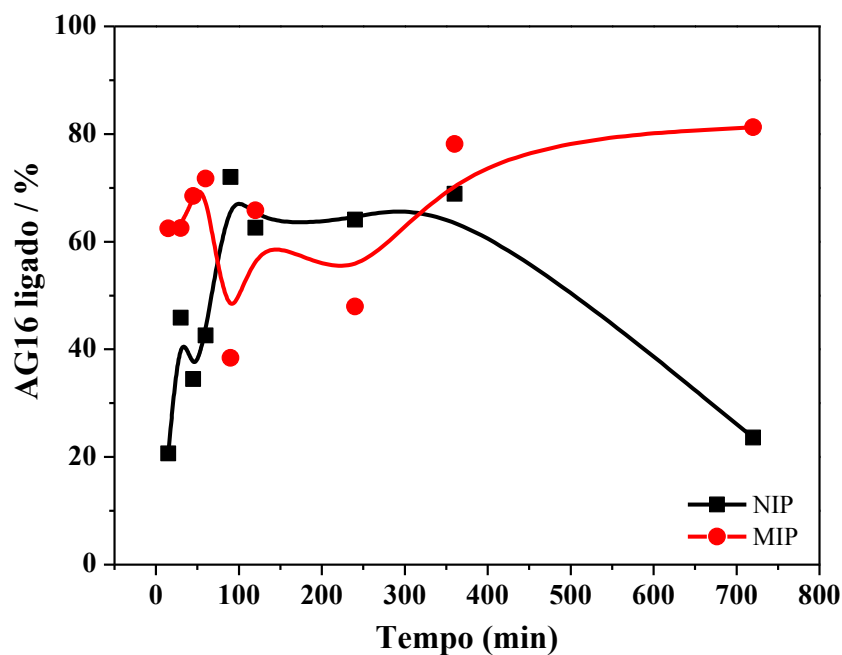
O resultado obtido, conforme observado na Figura 96, não foi satisfatório, uma vez que a capacidade de retenção para os polímeros MIP/NIP está bem próxima e com um perfil bastante diferente daquele obtido anteriormente, impossibilitando a diferenciação entre os polímeros.

Uma hipótese para este resultado é que o tempo de interação entre analito e polímero não é o ideal para favorecer a religação. Diante disso, optou-se por realizar um estudo para definir qual é o melhor tempo.

4.2.10 Avaliação do tempo de interação entre o corante AG16 e o MIP

A fim de obter uma maior religação do analito às cavidades seletivas do MIP, o tempo de interação entre o corante AG16 com os polímeros foi analisado (Figura 97).

Figura 97 - Estudo do tempo de interação entre o corante AG16 e os polímeros no intervalo de tempo de 15 a 720 min. Condições experimentais: concentração polimérica: 5 mg mL⁻¹, concentração de corante: 30 mg L⁻¹ em solução tampão B-R a pH 9.



Fonte: autor do trabalho.

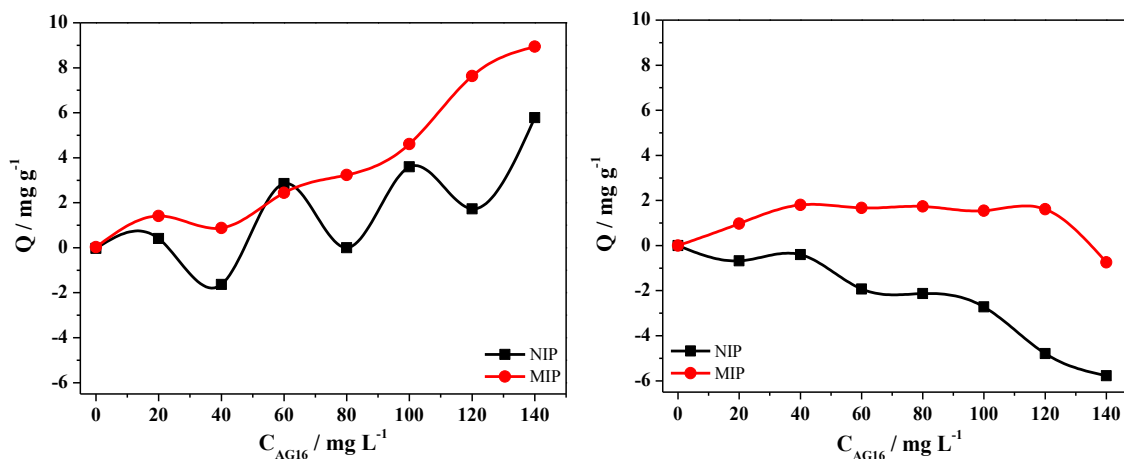
Conforme o resultado obtido na Figura 97, o resultado mostrou-se bastante aleatório. Pois nos tempos de 15 e 45 min houve uma boa diferenciação entre MIP e NIP (42% e 34%, respectivamente). No entanto, tempo de 30 e 60 min verificou-se que a diferenciação entre MIP e NIP foi menos evidente (16 e 29%), assim como no tempo de 120 e 360 min nos quais se observou a menor porcentagem de diferenciação entre os polímeros (3 e 9%, respectivamente). Os resultados obtidos nos tempos de 90 e 240 min não foram satisfatórios uma vez que a porcentagem de ligação do corante AG16 ao NIP foi maior que a do MIP.

O tempo para o qual se obteve a maior porcentagem de diferenciação entre MIP e NIP foi de 720 min (57%), além de ter apresentado a maior porcentagem de ligação do corante AG16 ao MIP (82 %).

4.2.11 Isoterma de adsorção com tempo de interação de 720 min

Após a definição do melhor tempo de interação entre o corante AG16 e os polímeros, duas novas curvas de isoterma foram construídas utilizando 720 min de incubação (Figura 98). Entretanto, os resultados foram totalmente irreprodutíveis.

Figura 98 - Replicada das curvas de isotermas de adsorção. Condições experimentais: concentração polimérica de 5 mg mL⁻¹ em solução tampão B-R a pH 9 com tempo de interação de 720 min.



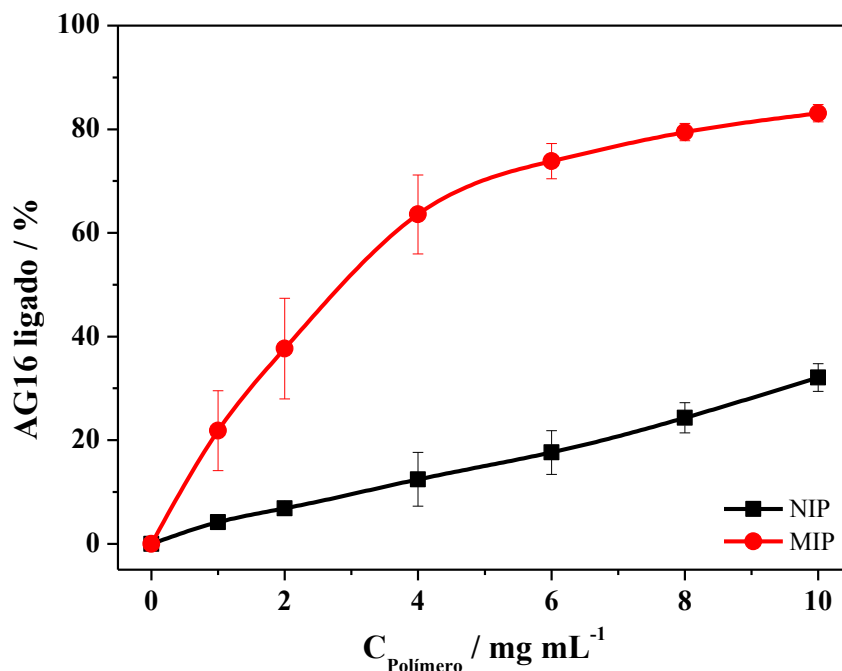
Fonte: autor do trabalho.

Diante da sequência de resultados insatisfatórios que foram obtidos, chegou-se a conclusão que o problema estaria na síntese desse polímero, pois os resultados reportados a partir da seção 4.2.9, ou seja, a partir da obtenção dos resultados insatisfatórios, foram realizados com um novo lote de MIP para o corante AG16. Uma vez que os resultados iniciais da síntese 1:3:200 mostraram-se satisfatórios e promissores, e após a síntese de um novo lote de polímero, realizada exatamente da mesma maneira que a anterior, passou a apresentar resultados inconclusivos, suspeitou-se que algum reagente utilizado na síntese poderia estar degradado. Por essa razão, novos reagentes foram adquiridos e constatou-se que o monômero funcional 1VI empregado na segunda síntese do MIP apresentava uma coloração marrom, enquanto o novo reagente adquirido possuía uma coloração amarela. Diante desse fato, um novo lote de MIP foi preparado empregando os reagentes recém-adquiridos e novamente teve o seu desempenho avaliado.

4.2.12 Estudo de ligação do MIP para AG16

Depois de realizada a nova síntese do MIP para o corante AG16 empregando reagentes novos, o desempenho dos polímeros foi novamente avaliado, primeiramente, por meio da análise de ligação (Figura 99).

Figura 99 - Análises de ligação entre o corante AG16 aos polímeros. Condições experimentais: concentração de corante $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ em água e com tempo de interação de 1 h; $n = 4$.



Fonte: autor do trabalho.

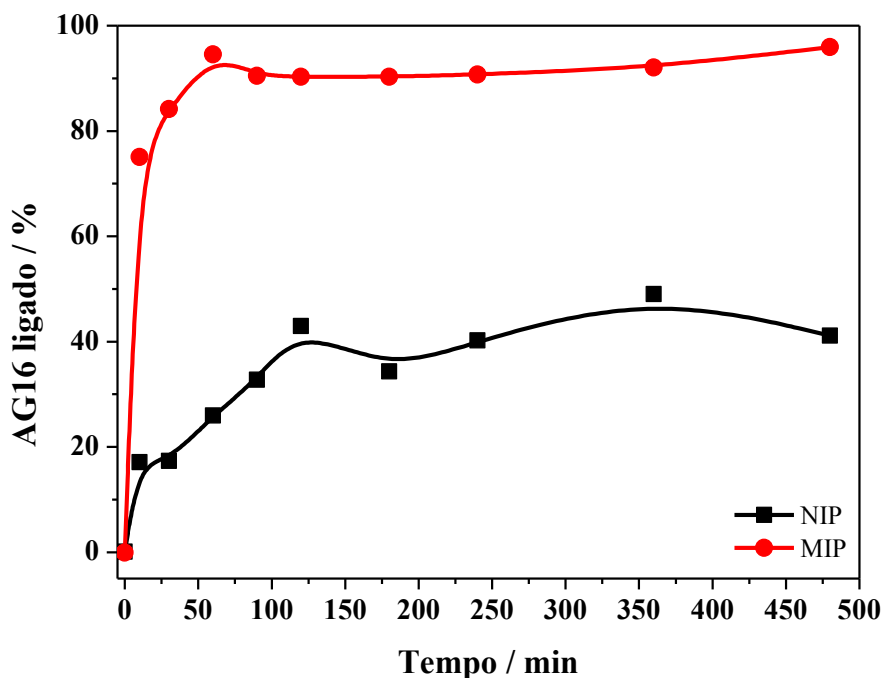
Os resultados satisfatórios obtidos anteriormente foram novamente registrados com esse novo lote de polímero, pois houve uma grande porcentagem de ligação do corante ao MIP, atingindo 83% quando utilizado 10 mg mL^{-1} de polímero contra 32% de ligação ao NIP. Além disso, o desvio entre as medidas foi baixo, mostrando a reprodutibilidade da análise.

Diante deste resultado, uma nova avaliação do tempo de interação entre analito-MIP e do comportamento da isoterma de adsorção foi realizada.

4.2.13 Estudo do tempo de interação entre AG16 e os polímeros

O tempo de interação entre o corante e os polímeros foi avaliado em um intervalo entre 15 e 480 min e é apresentado na Figura 100.

Figura 100 - Estudo do tempo de interação do corante AG16 aos polímeros no intervalo de tempo de 15 a 480 min. Condições experimentais: concentração polimérica 8 mg mL⁻¹, concentração de corante 30 µmol L⁻¹ em água.



Fonte: autor do trabalho.

Observa-se que independente do tempo utilizado na interação entre o analito e os polímeros, a porcentagem de religação do corante AG16 ao MIP é muito superior que ao NIP. No MIP, a porcentagem de religação aumenta até 60 min, tempo no qual há a maior porcentagem de ligação (95%). Após esse tempo, a valor de corante ligado permanece praticamente constante.

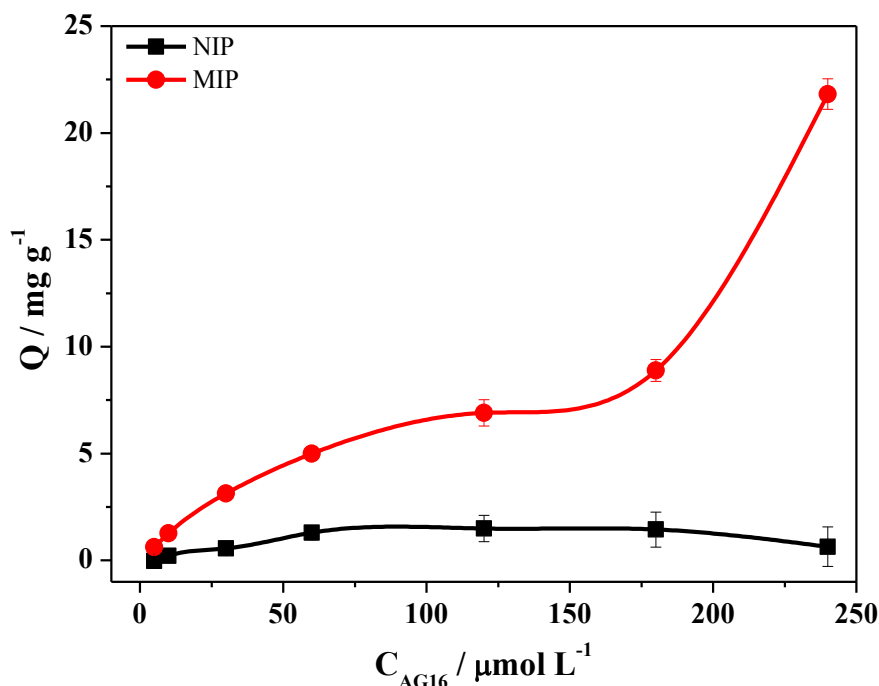
Enquanto que a porcentagem de religação do corante ao NIP aumenta até 120 min e então permanece praticamente constante.

Para as etapas subsequentes será utilizado o tempo de interação de 60 min, pois apresenta maior porcentagem de religação ao MIP e maior diferença com o NIP, aproximadamente 70%.

4.2.14 Isoterma de adsorção corante AG16 aos polímeros

Uma nova curva de isoterma foi construída no intervalo de 5 a 240 µmol L⁻¹ do corante AG16 e fixando-se a concentração polimérica em 8 mg mL⁻¹ com tempo de interação de 60 min (Figura 101).

Figura 101 - Isoterma de adsorção do corante AG16 aos polímeros. Condições experimentais: concentração polimérica 8 mg mL⁻¹ em água com tempo de interação de 60 min; n = 3.



Fonte: autor do trabalho.

A isoterma de adsorção do corante AG16 aos polímeros mostrou-se excelente. Uma vez que a quantidade de corante ligado ao NIP ficou próxima de 0 mg g⁻¹, enquanto a retenção do corante ao MIP foi bastante elevada. Desta forma, fica evidente que as cavidades seletivas para o corante AG16 foram formadas com sucesso na estrutura do MIP. Além disso, observa-se que a porcentagem de ligação não específica na estrutura da cadeia polimérica é baixa. Isso pode ser afirmado pela baixa retenção do corante ao NIP.

Observando o perfil da isoterma que o MIP apresentou, é possível classificá-la como uma isoterma do tipo IV (Figura 60), que indica a presença de microporos associados à mesoporos.

A partir deste resultado, foi possível calcular o fator de impressão do MIP para o corante AG16 conforme apresentado na Tabela 18.

Tabela 18 - Parâmetros de ligação do corante AG16 às cavidades livres do MIP a partir da determinação da capacidade de ligação (Q), coeficiente de partição (K_p) e fator de impressão (I).

Polímero	Q / mg g ⁻¹	K _p / mL g ⁻¹	I
NIP	1,50	0,0116	6,91
MIP	6,90	0,0801	

Fonte: autor do trabalho.

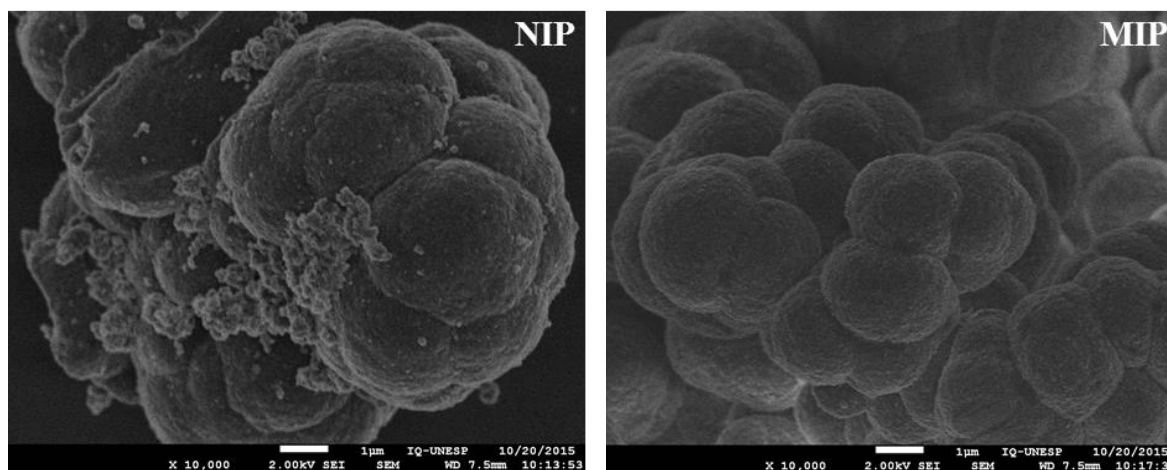
É possível observar que o polímero apresentou um excelente fator de impressão, no valor de 6,91. Este resultado mostra que o corante AG16 apresenta alta capacidade se ligar as cavidades seletivas do MIP.

Com a síntese do MIP bem definida e o desempenho bastante satisfatório, os polímeros foram caracterizados por FEG-SEM, FTIR, BET e análise térmica, cujos resultados são apresentados nas seções 4.2.15 a 4.2.18.

4.2.15 Caracterização dos polímeros por microscopia eletrônica de varredura

O estudo morfológico do NIP e MIP para o corante AG16 foi realizado por meio de imagens de FEG-SEM (Figura 102).

Figura 102 - Imagens de FEG-SEM do NIP e MIP para o corante AG16.



Fonte: autor do trabalho.

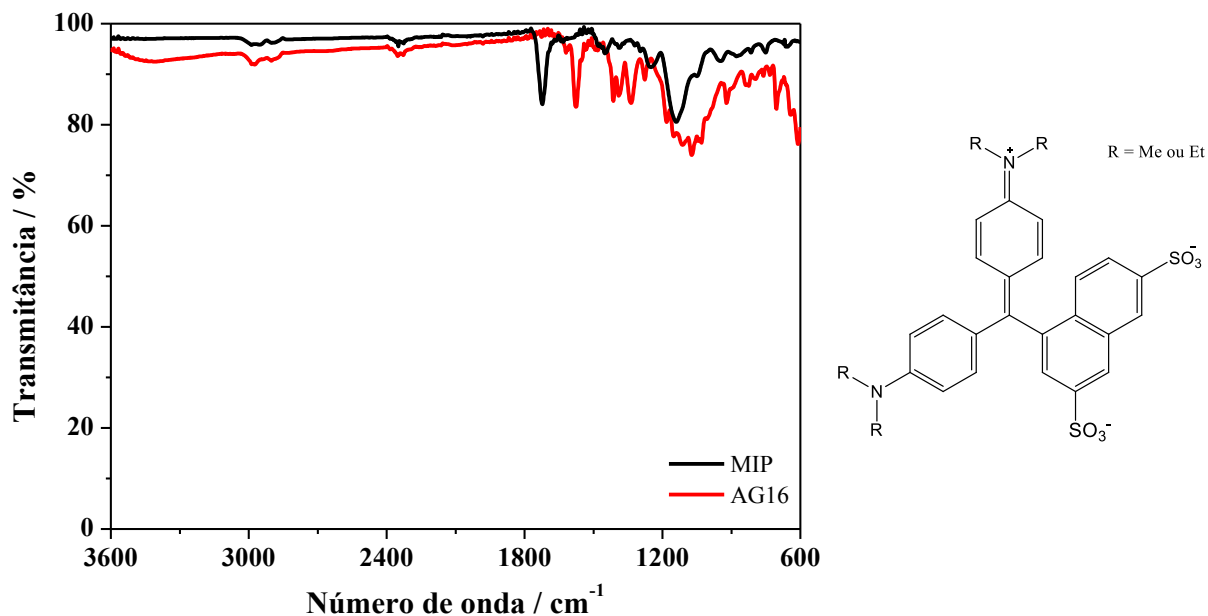
Conforme observado nas imagens, tanto NIP como MIP apresentam-se na forma de partículas esféricas aglomeradas. No entanto, partículas menores de polímeros se aglomeraram as partículas maiores de NIP, enquanto que o MIP mostrou-se mais uniforme quanto ao tamanho e forma das partículas. O tamanho médio das partículas de MIP foram $2,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de diâmetro e as de NIP $31 \pm 5 \text{ nm}$ as partículas menores e $3,1 \pm 0,7 \mu\text{m}$ as partículas maiores.

4.2.16 Caracterização do MIP por espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier

O espectro de IV para o corante AG16 é apresentado na Figura 103, onde se observa bandas características dos grupos sulfonatos entre 1376 e 769 cm^{-1} , além das bandas

referentes aos anéis aromáticos entre 1605 e 1440 cm^{-1} . Como o MIP foi analisado após a remoção do corante da estrutura polimérica, não era esperado nenhum sinal referente ao corante AG16.

Figura 103 - Espectro na região do infravermelho do MIP e do corante AG16.



Fonte: autor do trabalho.

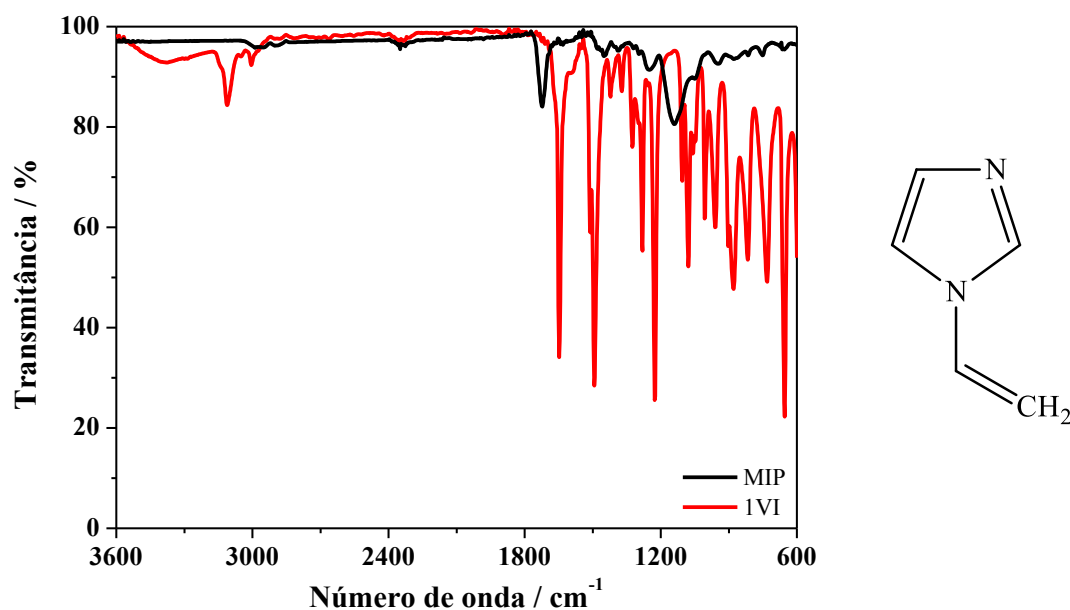
A Tabela 21 apresenta as atribuições às bandas encontradas no espectro do corante AG16, utilizado como molécula molde na síntese do MIP.

Tabela 19 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 103 com as respectivas atribuições.

Banda (cm^{-1})	2985	1605-1440	1339	1376	1175	1000-769
Atribuição	ν C-H	ν C=C	ν C-N	ν_{as} (S=O) ₂	ν_s (S=O) ₂	ν S-O-C

Fonte: autor do trabalho.

O monômero funcional 1VI possui sinais intensos na região de menor frequência (entre 1640 a 870 cm^{-1}) referentes às ligações entre os átomos de carbono e nitrogênio, além dos picos característicos ao grupo vinílico. Como observado na Figura 104, o MIP não apresenta bandas características do 1VI, provavelmente devido à quantidade desse reagente na estrutura do polímero estar abaixo do limite de detecção do equipamento.

Figura 104 - Espectro na região do infravermelho do MIP e do monômero funcional 1VI.

Fonte: autor do trabalho.

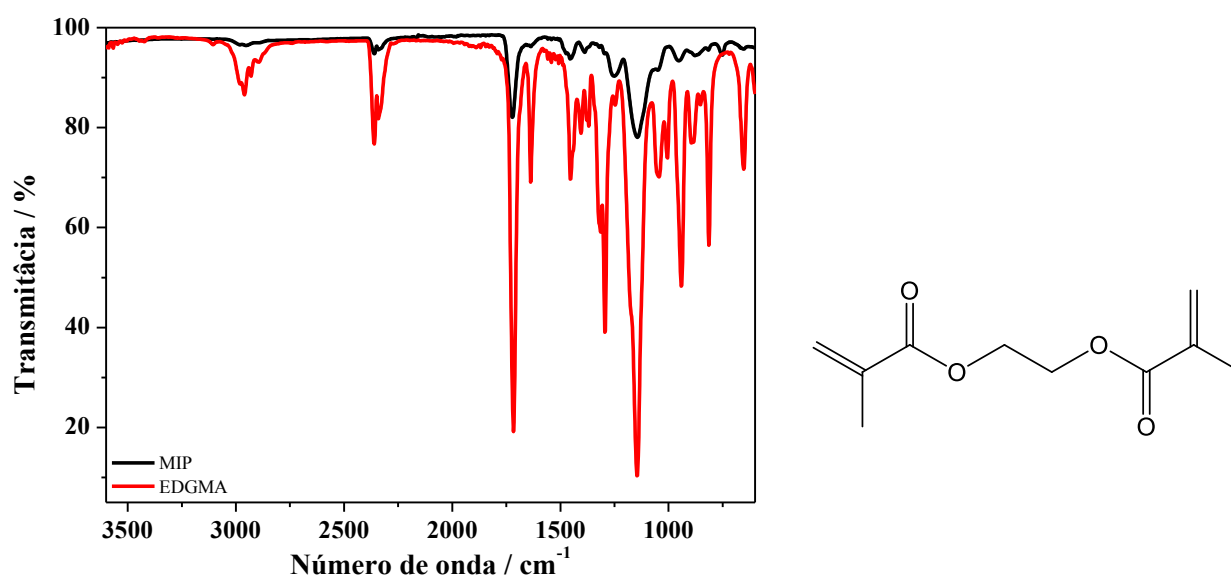
As bandas encontradas no espectro do monômero funcional 1VI, com as respectivas atribuições, são apresentadas na Tabela 20.

Tabela 20 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 104 com as respectivas atribuições.

Banda (cm ⁻¹)	3108-3005	1640	1423-1395	1491	1279	1221	1010-870
Atribuição	ν C-H	ν C=N	δ_s C-H	δ_s C=N	ν C-N	ν C-H ligado a C=N	ω C-H

Fonte: autor do trabalho.

O espectro no monômero estrutural EGDMA já foi apresentado na Figura 54. Aqui o experimento foi realizado para a comparação do espectro do MIP como o do ME, sendo possível observar que a estrutura do MIP é composta basicamente somente pelo EGDMA, assim como o MIP para o corante BR9. Uma vez que o MIP possui as bandas características do grupo éster em 1716 e 1294 cm⁻¹, referentes ao estiramento da carbonila (C=O) e da ligação C-O respectivamente. Além disso, também foi visível a grande diminuição na intensidade do sinal referente à dupla ligação entre os carbonos (C=C) em 1637 cm⁻¹ evidenciando a polimerização. As atribuições às bandas referentes ao EGDMA não são aqui apresentadas, pois já foram realizadas na Tabela 12.

Figura 105 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do monômero estrutural EGDMA.

Fonte: autor do trabalho.

4.2.17 Análise da porosidade pelo método BET

A porosidade do MIP e NIP para o corante AG16 foi analisada pelo método de BET, cujos resultados obtidos são apresentados na Tabela 21.

Tabela 21 - Parâmetros obtidos pelo método BET para os MIP/NIP.

Polímero	Área superficial (m ² g ⁻¹)	Volume do poro (m ³ g ⁻¹)	Tamanho do poro (Å)
NIP	26,9696	0,007449	50,7
MIP	194,3796	0,062542	40,0

Fonte: autor do trabalho.

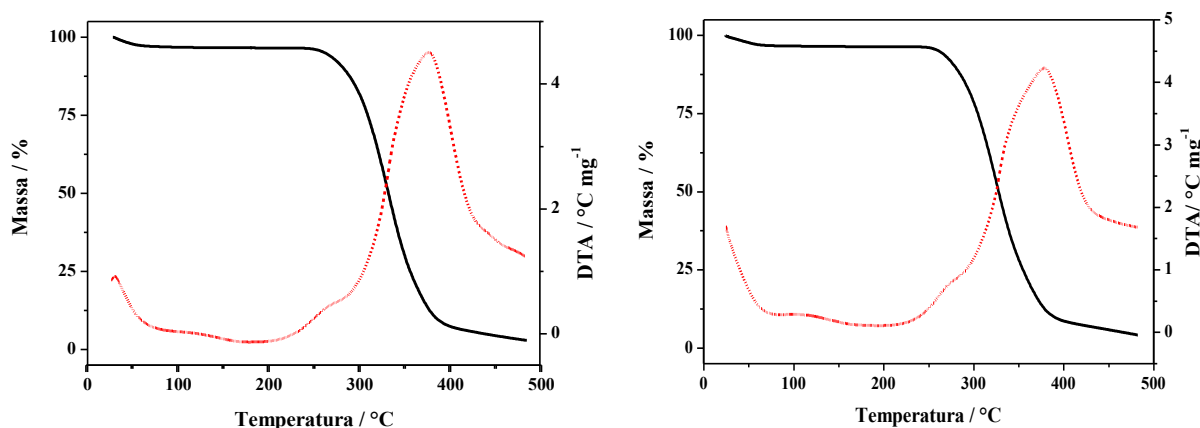
O MIP para o corante AG16 possui uma maior porosidade que o NIP, uma vez que apresentou uma área superficial e volume do poro 7,2 e 8,4 vezes, respectivamente, maiores que o NIP. A partir do resultado de porosidade e dos estudos de religação do analito ao polímero, pode-se afirmar que as cavidades seletivas para o corante AG16 foram formadas com sucesso.

De acordo com o tamanho dos poros apresentados neste estudo, pode-se classificar o polímero, conforme exposto na Tabela 15, como um material mesoporoso, resultado que está em concordância com a isoterma de adsorção (Figura 101) que foi classificada como do tipo IV, que indica que o polímero possui propriedades mesoporosas.

4.2.18 Análise térmica dos polímeros

A estabilidade térmica dos polímeros foi verificada por meio da análise termogravimétrica e térmica diferencial do NIP e MIP para o corante AG16 (Figura 106).

Figura 106 - Análise termogravimétrica (preto) e análise térmica diferencial (vermelho) para o NIP (A) e MIP (B) para o corante AG16.



Fonte: autor do trabalho.

Conforme observado, NIP e MIP possuem comportamentos térmicos semelhantes. Há a perda da água adsorvida na estrutura dos polímeros até 100 °C. No intervalo de 100 a 255 °C o material permanece estável, a partir desta temperatura ocorre a decomposição do polímero, sendo esta transição corresponde a picos exotérmicos de acordo com a análise de DTA.

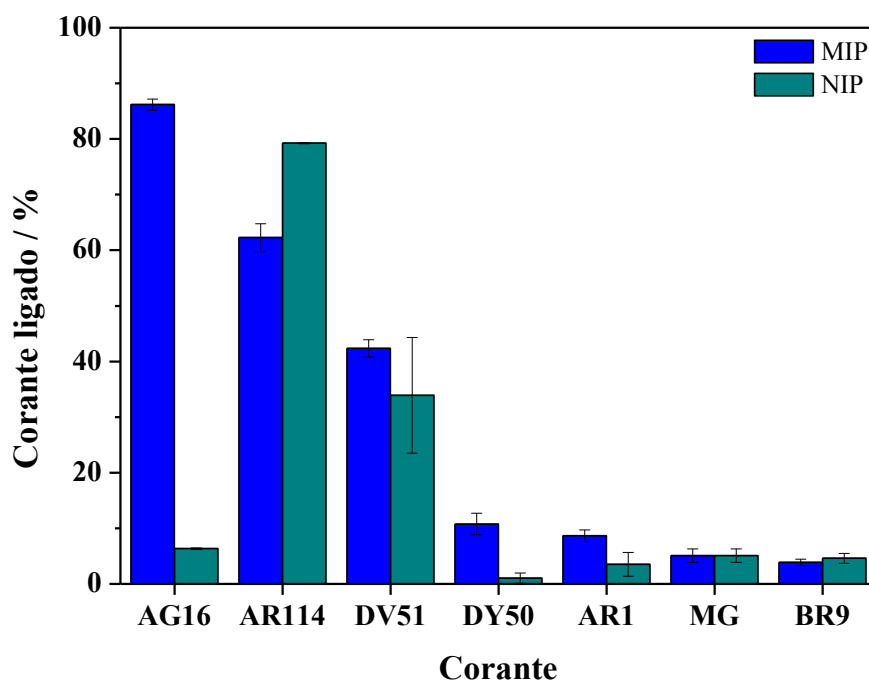
Portanto, pode-se considerar que as estruturas poliméricas são estáveis a temperaturas relativamente altas. Porém, como destacado na seção 4.1.17, não é possível afirmar que as cavidades são estáveis com o aumento da temperatura.

4.2.19 Estudo de seletividade do MIP para AG16

Com o polímero caracterizado e apresentando resultados bastante satisfatórios de religação, foi avaliada a seletividade do MIP para o corante AG16. Para isso, os polímeros foram avaliados na presença de outros seis corantes: Vermelho Básico 9 (BR9), Verde de Metila (MG), Vermelho Ácido 1 (AR1), Violeta Direto 51 (DV51), Vermelho Ácido 114 (AR114) e Amarelo Direto 50 (DY50), cujas estruturas são apresentadas na Figura 8.

O estudo de seletividade foi realizado por meio da incubação de cada um dos corantes na concentração de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com 8 mg mL^{-1} dos polímeros durante 60 min. A porcentagem de ligação dos corantes aos polímeros é mostrada na Figura 107.

Figura 107 - Ligação dos diferentes corantes têxteis ao MIP e NIP para AG16. Condições experimentais: concentração dos corantes $50 \mu\text{mol L}^{-1}$; concentração polimérica 8 mg mL^{-1} em água e com tempo de interação de 1 h; $n=3$. O comprimento de onda utilizado para o monitoramento foi o característico de cada um dos corantes.



Fonte: autor do trabalho.

O MIP para o corante AG16 mostrou-se bastante seletivo frente aos corantes DY50, AR1, MG e BR9, pois aproximadamente 86% do corante AG16 ligaram-se ao MIP, enquanto que para esses outros quatro corantes a porcentagem de ligação ficou entre 4 e 11%.

Já os corantes AR114 e DV51 apresentaram porcentagens de ligação consideravelmente altas, 62 e 42% respectivamente. Provavelmente, essa interferência ocorreu devido aos grupos sulfonatos desses corantes interagirem eletrostaticamente com a carga parcial positiva do monômero 1VI. Como já demonstrado por meio da análise de RMN (seção 4.2.4), a interação que ocorre entre AG16 e o 1VI é íon-dipolo nesses mesmos grupos. Apesar dos corantes AR114 e DV51 serem estruturalmente maiores que o AG16, as estruturas são mais lineares, o que possibilita a inserção da extremidade com os grupos sulfonatos nas cavidades do MIP. Adicionalmente, é relevante destacar que houve uma alta porcentagem de religação dos corantes AR114 e DV51 ao NIP, o que evidencia que a interação é inespecífica e ocorre nos grupos funcionais livres presentes na estrutura do polímero não-impresso.

4.2.20 Aplicação em amostra de efluente contaminada com AG16

A avaliação da eficiência dos polímeros na extração do corante AG16 de amostras de efluentes industriais têxteis foi executada da mesma maneira que descrito para o corante BR9

(seção 4.1.21), ou seja, utilizando o MIP e NIP empacotados em cartuchos para SPE e comparando os resultados com cartuchos comerciais.

A amostra de efluente industrial têxtil sem o corante AG16 em sua composição foi contaminada com o corante AG16 na concentração de $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. Para realizar a comparação da eficiência de extração do corante da amostra e da eluição do analito retido ao polímero, uma solução padrão do corante na mesma concentração da contaminação da amostra foi preparada em água deionizada.

Então, 25,00 mL da solução padrão do corante e da amostra contaminada foram passadas nos cartuchos contendo os polímeros empacotados num fluxo aproximado de 2 mL min^{-1} . Em seguida, o corante foi pré-concentrado com 10 mL de metanol.

A absorbância da solução de corante pré-concentrado em metanol foi monitorada em 642 nm e os resultados são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 - Valores de recuperação relativa do corante AG16 em uma amostra de um efluente industrial têxtil a partir do uso de com diferentes cartuchos de SPE.

Solução	Recheio do SPE	Recuperação relativa / %
Solução padrão do corante	NIP	29,1
	MIP	98,7
Amostra de efluente contaminada	NIP	26,3
	MIP	94,1
	C18	10,6
	MIP _{Fluoroquinolona}	38,4
	MIP _{Nitroimidazol}	39,2

Fonte: autor do trabalho.

A extração do corante AG16 em amostras de efluente mostrou-se excelente, uma vez que o MIP apresentou uma recuperação de 94,1%, enquanto o NIP teve 26,3%. A porcentagem de recuperação relativa obtida pelo MIP foi muito superior à obtida pelos cartuchos comerciais, mostrando que o emprego deste MIP para extração deste corante em efluentes industriais é totalmente viável.

4.3 MIP para o corante verde de metila (MG)

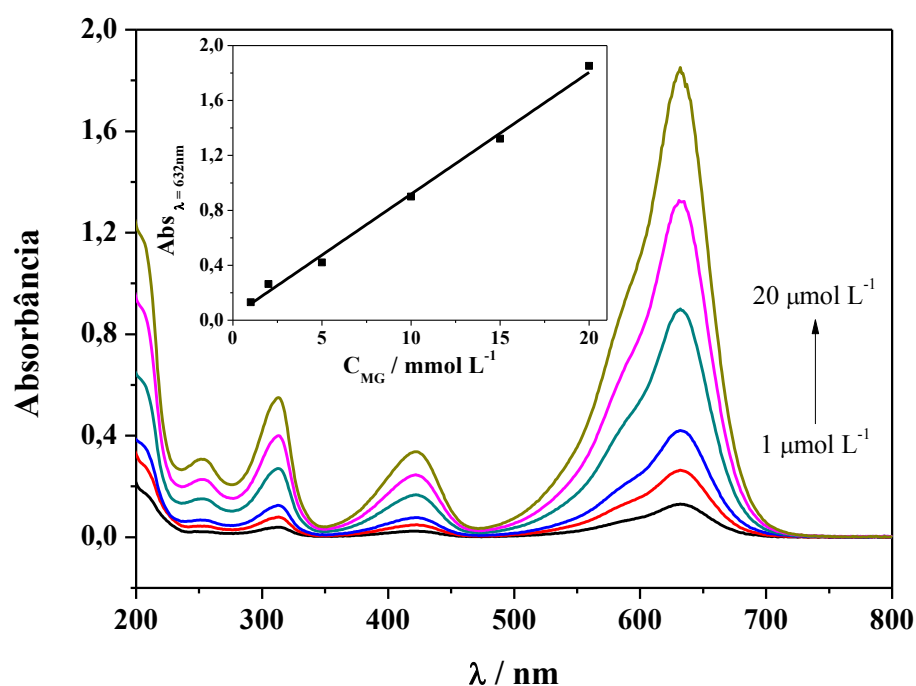
Dois diferentes monômeros funcionais foram analisados para a síntese de MIP para o corante AG16: o ácido metacrílico e o 1-vinilimidazol. A interação do corante a cada um dos polímeros foi avaliada e diversas caracterizações foram realizadas.

4.3.1 Espectro de absorvância e curva analítica

A banda referente ao grupo cromóforo do corante MG é encontrada na região de 632 nm, como pode ser observado nos espectros de absorvância na Figura 108. A curva analítica neste comprimento de onda apresentou linearidade no intervalo de 0 a 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e coeficiente de correlação igual a 0,99443.

$$\text{Abs} = -0,03108(\pm 0,03328) + 88704(\pm 2967) C_{\text{MG}} \quad (\text{Equação 8})$$

Figura 108 - Espectro de absorvância na região UV-Vis para diferentes concentrações do corante MG dissolvido em água. *Inset*: Curva analítica referente à absorvância máxima em 632 nm.

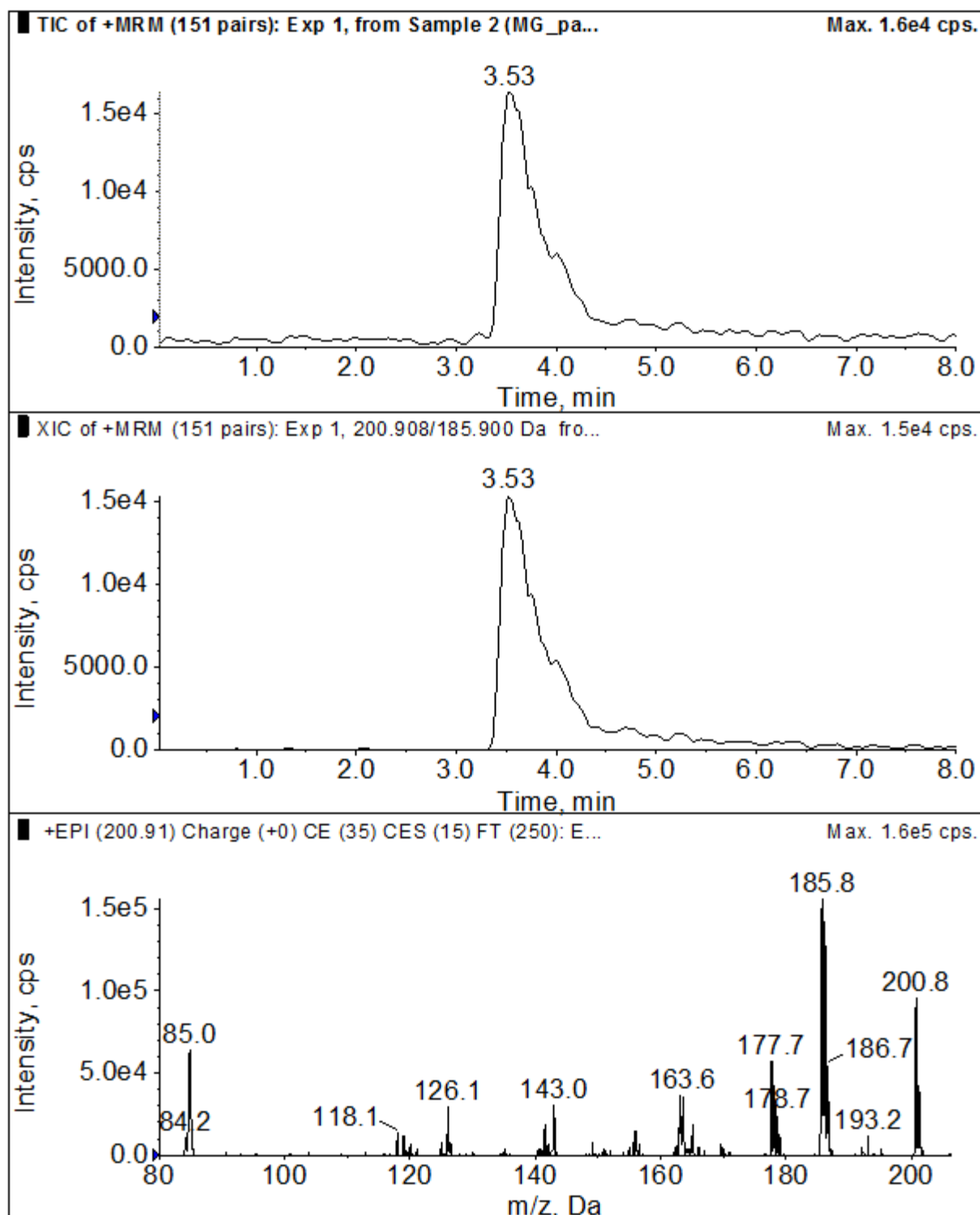


Fonte: autor do trabalho.

4.2.2 Análise da degradação do corante MG por CLAE-EM

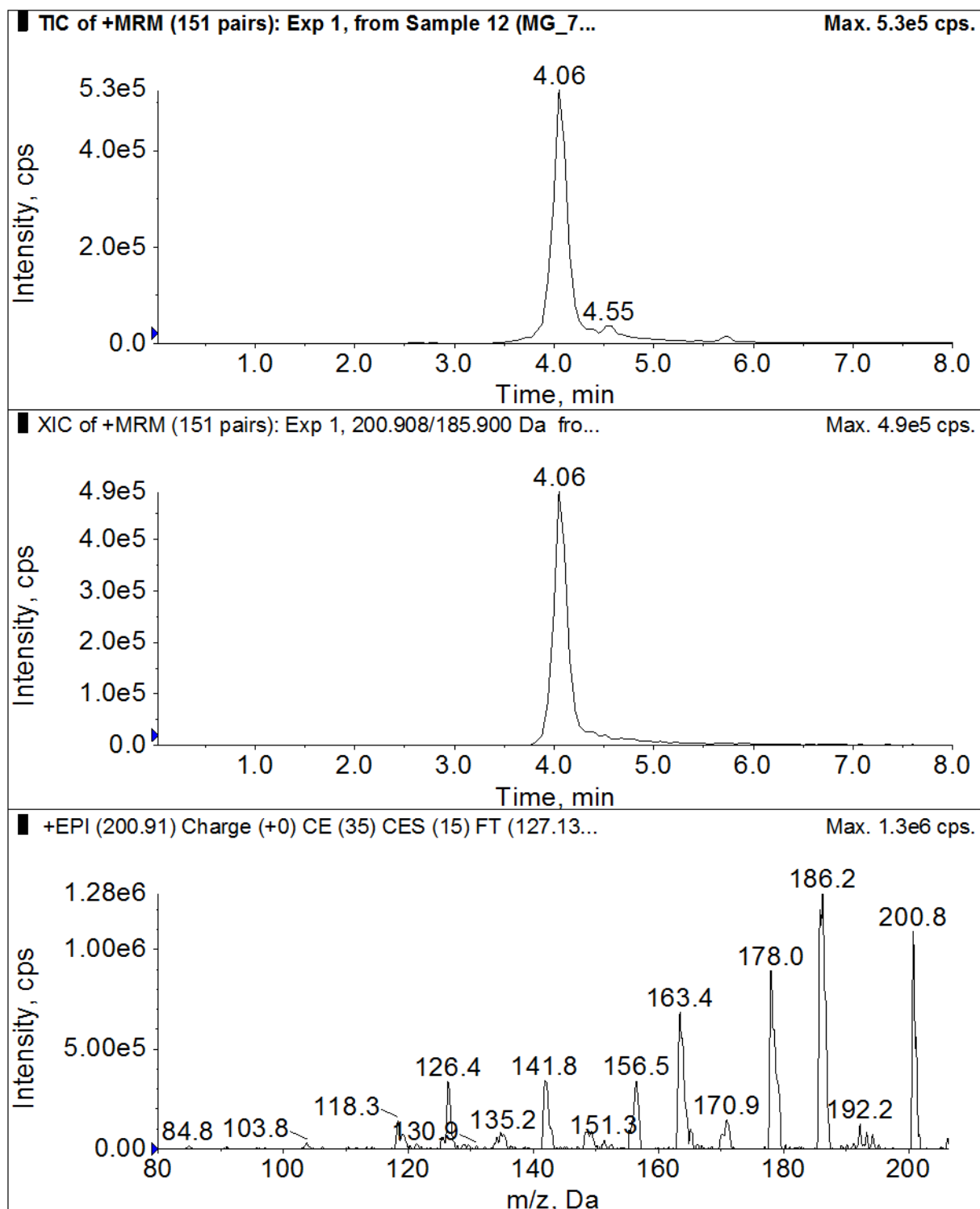
Para avaliar a estabilidade do corante MG, foram analisadas soluções do corante preparadas em água deionizada na concentração de 10 mg mL^{-1} e expostas à luz solar natural durante 7 (Figura 110) e 20 dias (Figura 111). Em seguida, essas soluções foram analisadas por CLAE-EM. O sinal cromatográfico e a fragmentação dos íons destas soluções do corante foram comparadas com uma solução padrão do corante MG recém-preparada na concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 109).

Figura 109 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 200,8 (MG) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 200,8 em 3,53 min para o padrão MG.



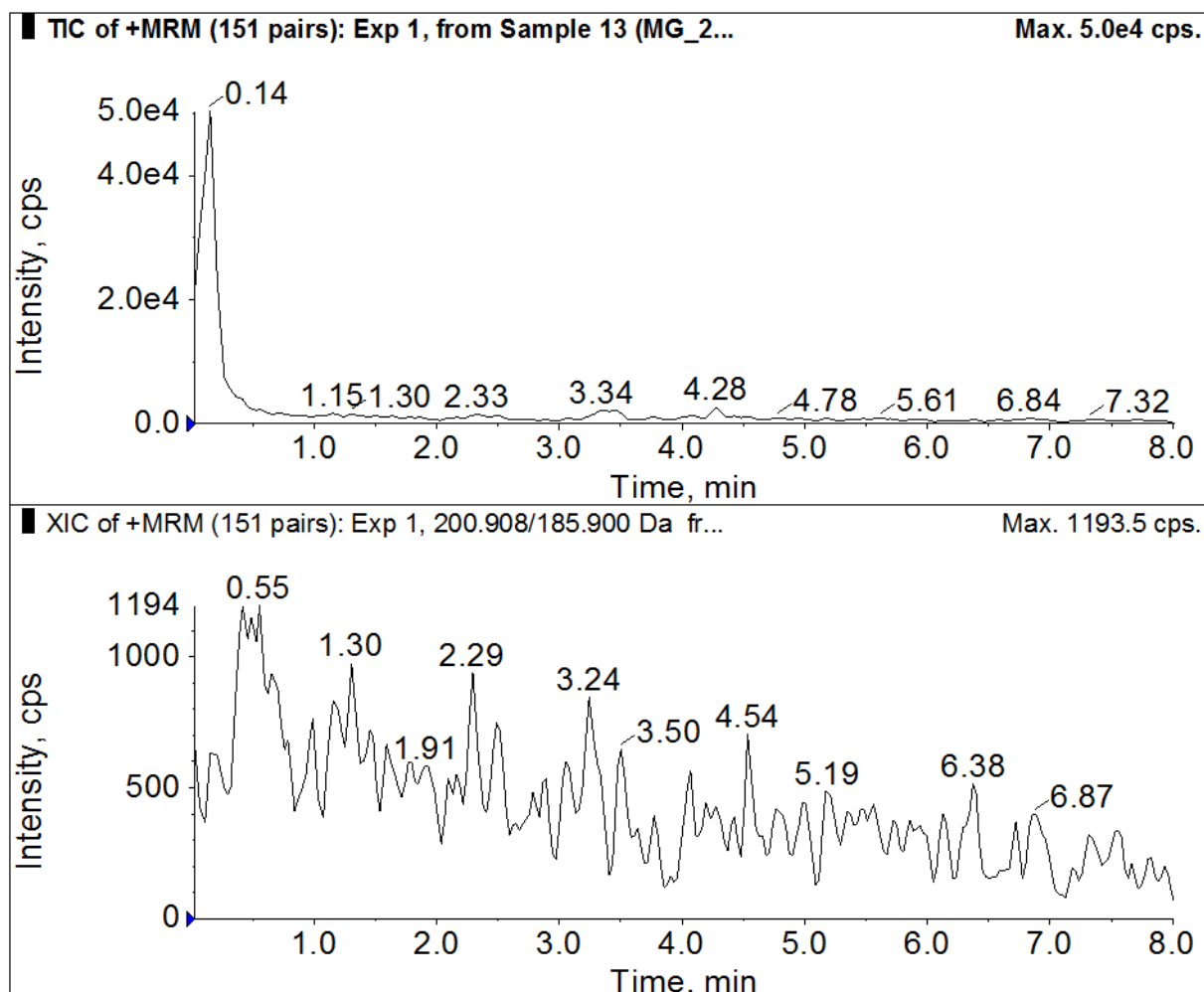
Fonte: autor do trabalho.

Figura 110 - TIC (cromatograma de íon totais), XIC (Cromatograma de íon extraído) de m/z 200,8 (MG) e respectivo espectro de íons fragmentos de m/z 200,8 em 4,06 min para a solução de corante MG exposta à luz solar por 7 dias.



Fonte: autor do trabalho.

Figura 111 - TIC (cromatograma de íon totais) e XIC (cromatograma de íon extraído) para a solução de corante MG exposta à luz solar por 20 dias.



Fonte: autor do trabalho.

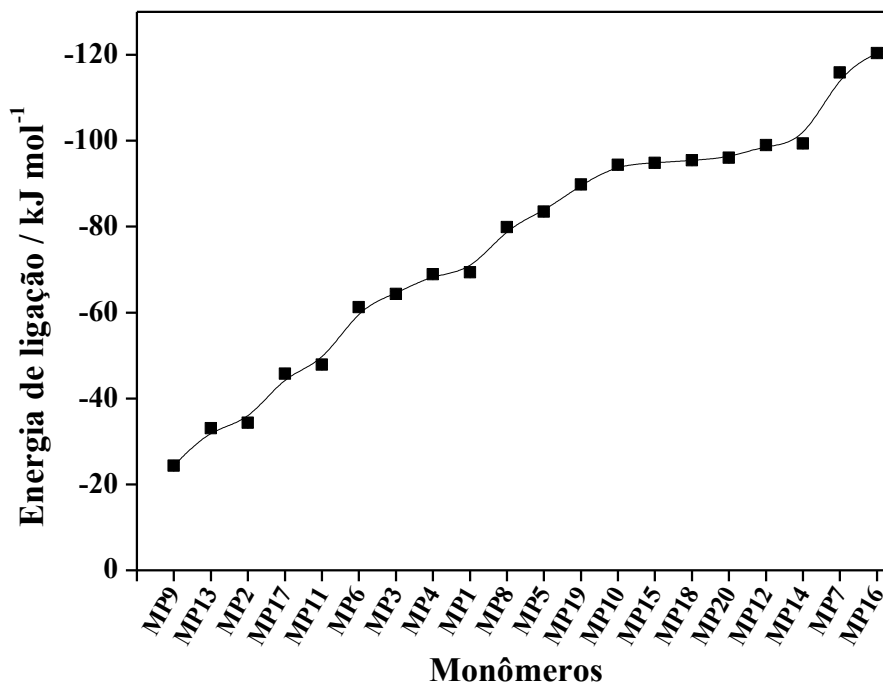
O corante MG foi encontrado na amostra após 7 dias de exposição à luz solar, contudo depois de 20 dias não foi mais possível detectá-lo na solução. Desta forma, conclui-se que esse corante apresenta uma menor estabilidade em relação aos demais corantes analisados nessa tese.

Apesar de este composto ter apresentado uma menor estabilidade quando comparado aos demais corantes, ainda existe a importância em desenvolver uma metodologia para a sua determinação, pois ainda pode ser considerado um poluente persistente, uma vez que permanece no ambiente por pelo menos 7 dias.

4.3.3 Simulação computacional

A interação do corante MG com os 20 monômeros comerciais mais utilizados para a síntese de MIP (Tabela 1) foi analisada por simulação computacional e a energia de ligação entre o corante e cada monômero é apresentado na Figura 112.

Figura 112 - Média dos resultados das simulações realizadas para avaliar a energia da interação entre três diferentes conformamentos do corante Verde de Metila com os 20 monômeros propostos.



Fonte: autor do trabalho.

Segundo os cálculos computacionais, o corante MG apresenta alta afinidade com os monômeros 1-vinilimidazol (MP16) e alilamina (MP7). Já os monômeros etileno-glicol-dimetacrilato (MP9), 3-divinilbenzeno (MP13) e ácido imidazol-4-acrílico (MP2) foram os que apresentam menor energia de ligação, respectivamente.

Diante deste resultado, optou-se em avaliar dois diferentes monômeros para a síntese do MIP para o corante MG: o 1-vinilimidazol, monômero com caráter básico e que apresentou a maior energia de ligação com o analito; e o ácido metacrílico (MP12), que apresentou uma energia de ligação relativamente alta com o corante.

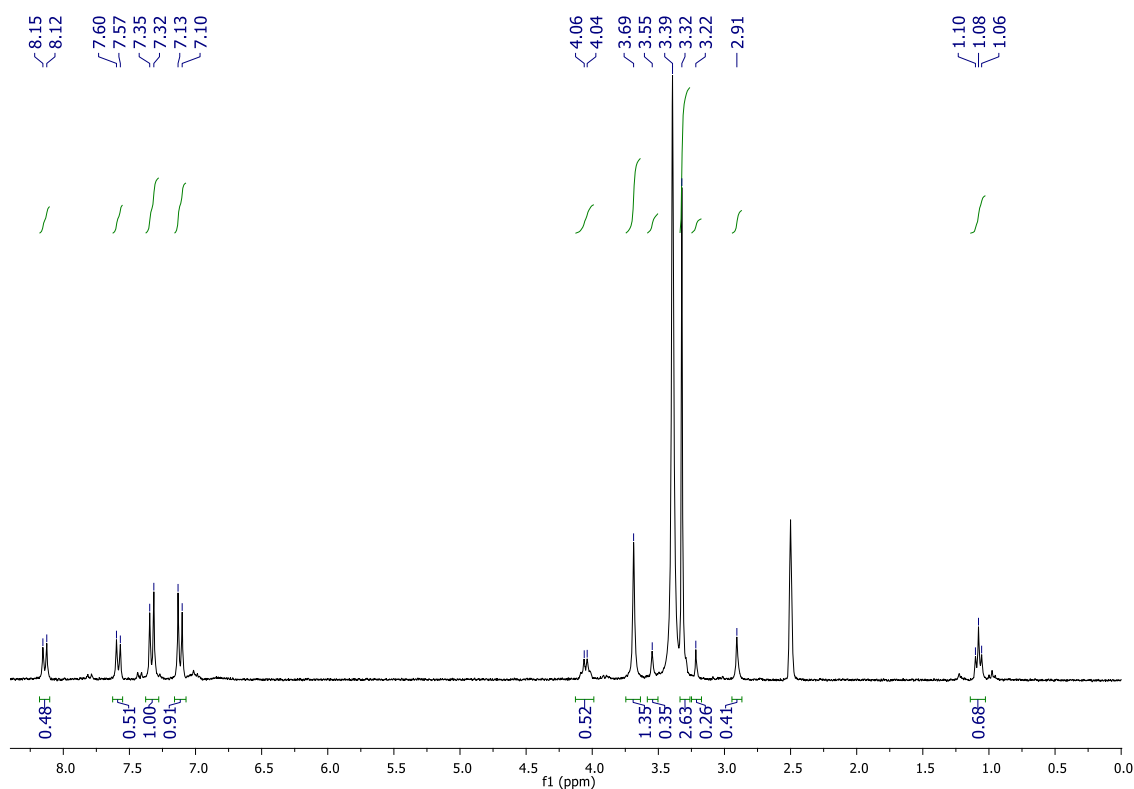
4.3.4 Avaliação da interação entre MG e monômeros funcionais por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Utilizando a técnica de RMN, foi realizada a investigação da interação entre o corante MG e dois monômeros funcionais, o 1VI e o MAA.

Para isso, foram preparadas as seguintes soluções em 700 μL de DMSO-d_6 : 8,0 mg de MG; 8,0 mg de 1VI; 8,0 mg de MAA e misturas entre o corante AG16 e cada um dos monômeros, na proporção 1:3, de forma que totalizasse 8 mg.

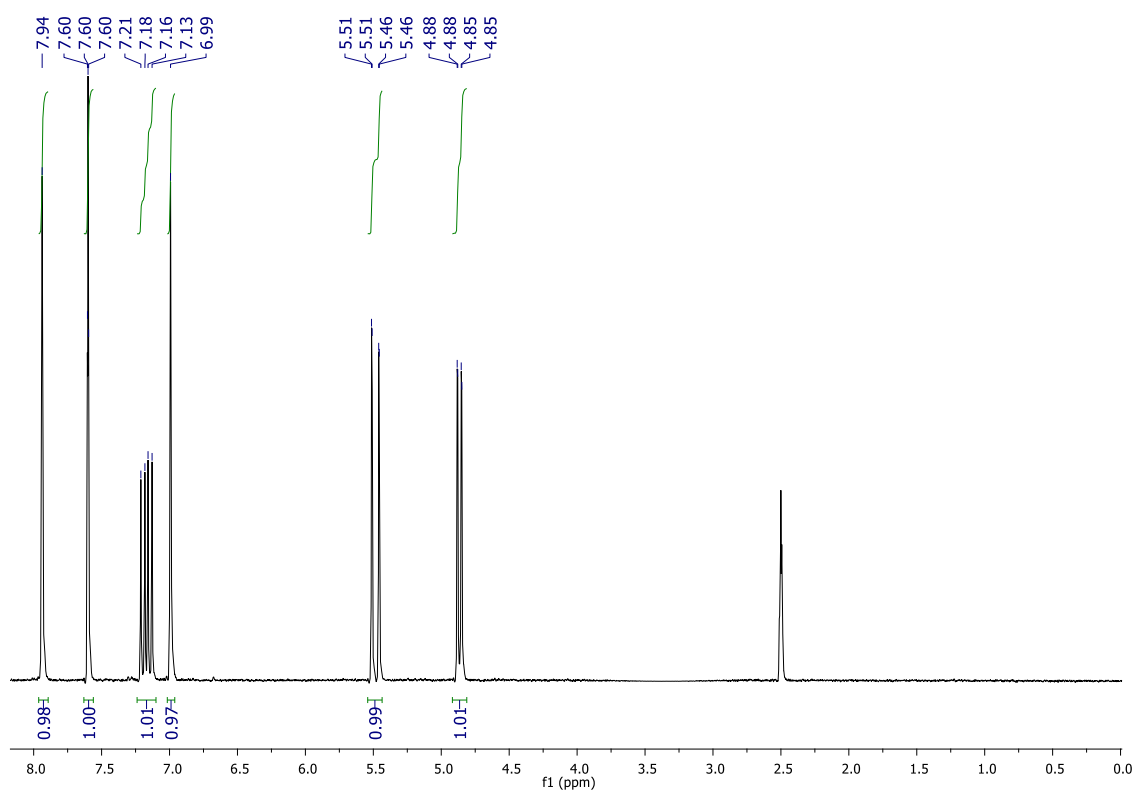
Foram realizados somente experimentos de RMN de ^1H , pois já foram suficientes para concluir a interação do corante com cada um dos monômeros. Os espectros de RMN de ^1H para o estudo com o monômero 1VI são apresentados das Figura 113 a Figura 116 e para o monômero MAA das Figura 118 a Figura 120.

Figura 113 - Espectro de RMN de ^1H do corante MG (DMSO-d_6 , 300 MHz).



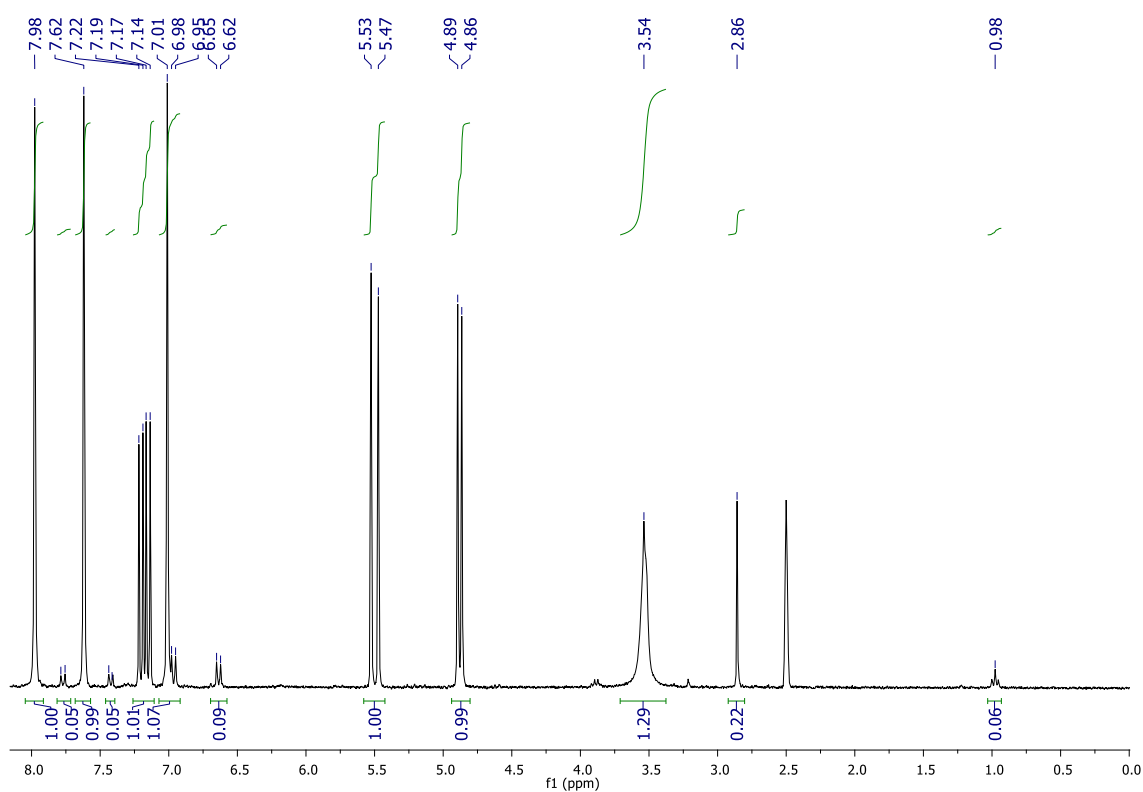
Fonte: autor do trabalho.

Figura 114 - Espectro de RMN de ^1H do monômero funcional 1VI (DMSO- d_6 , 300 MHz).



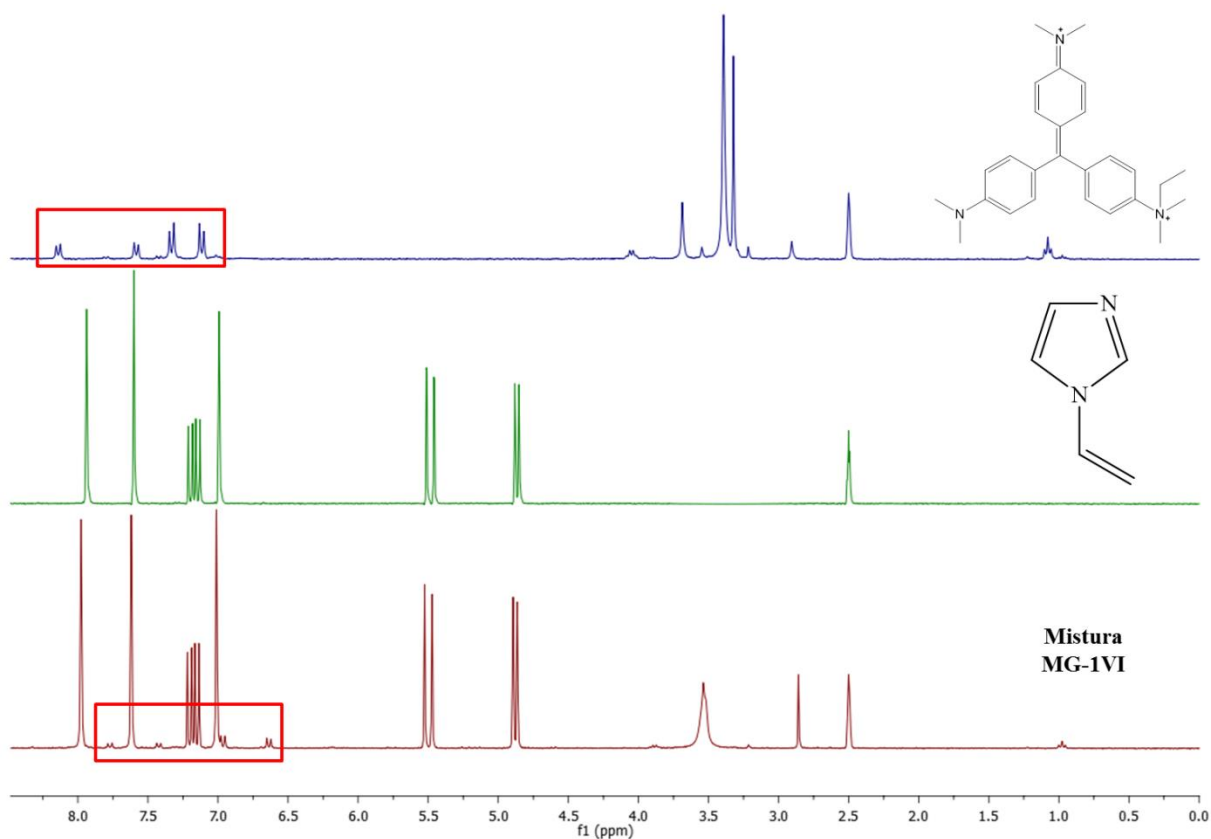
Fonte: autor do trabalho.

Figura 115 - Espectro de RMN de ^1H da mistura MG-1VI (DMSO- d_6 , 300 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

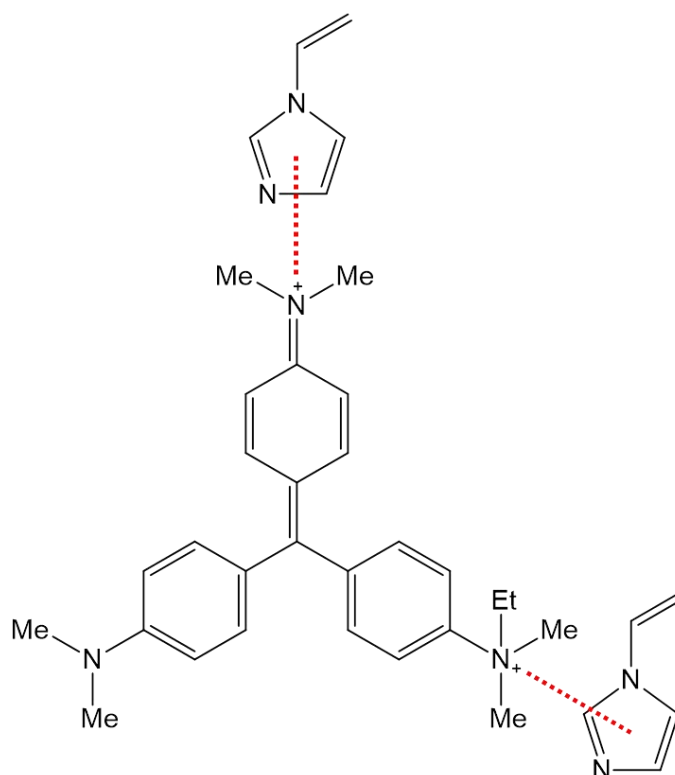
Figura 116 - Espectro de RMN de ^1H do corante MG (azul), do monômero funcional 1VI (verde) e da mistura MG-1VI (vermelho) (DMSO-d_6 , 300 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

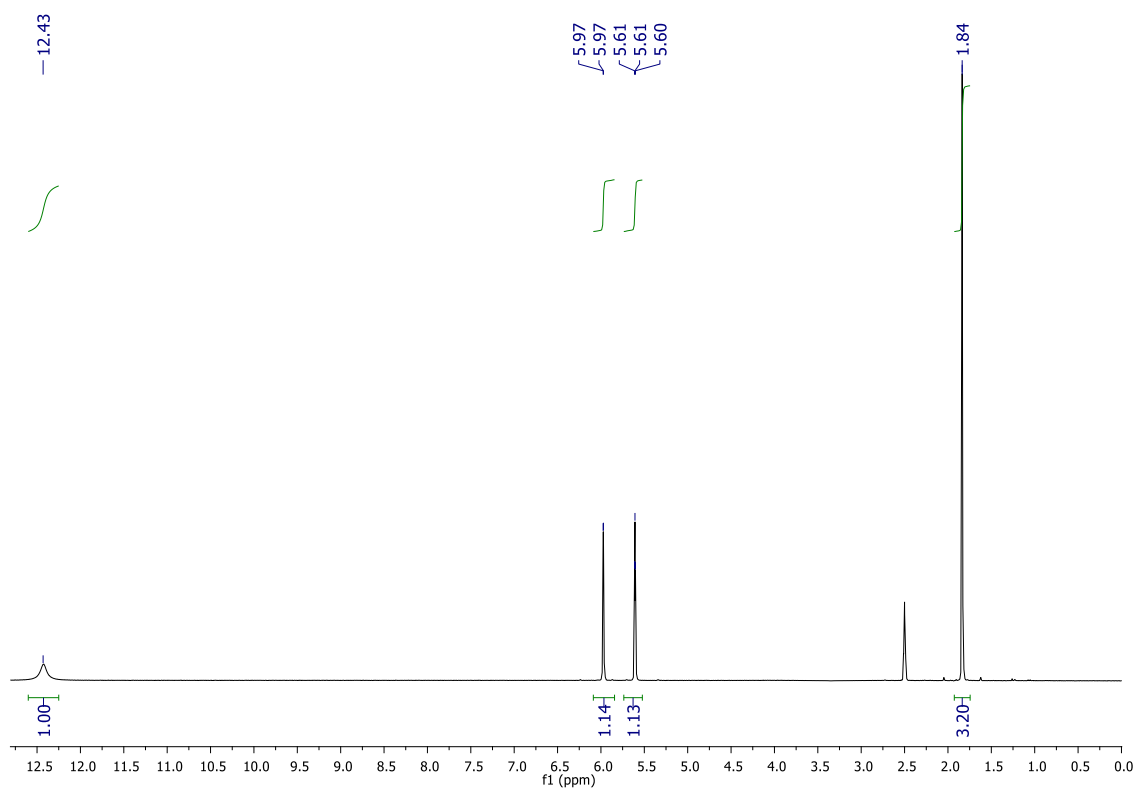
Quando o corante MG entra em contato com o monômero 1VI observa-se um grande deslocamento dos sinais referentes aos anéis aromáticos do corante, o que evidencia a interação entre os dois compostos. Como o 1VI não apresenta deslocamento em seus sinais de hidrogênio, pode-se concluir que ocorre uma interação π -cátion entre as moléculas. A interação ocorre devido à densidade parcial negativa na estrutura do 1VI, proveniente do sistema de elétrons π presentes no anel, o que favorece com que as cargas positivas presente nas amins terciárias do corante interajam com o monômero. Desta forma, não há deslocamento nos hidrogênios do monômero devido à ressonância da molécula. Enquanto que o deslocamento nos hidrogênios dos anéis aromáticos da molécula do corante pode ser explicado pela proteção que a interação com o monômero propicia nesses hidrogênios. A proposta de interação entre o corante MG com o monômero 1VI é esquematizada na Figura 117.

Figura 117 - Proposta para a interação entre MG-1VI.



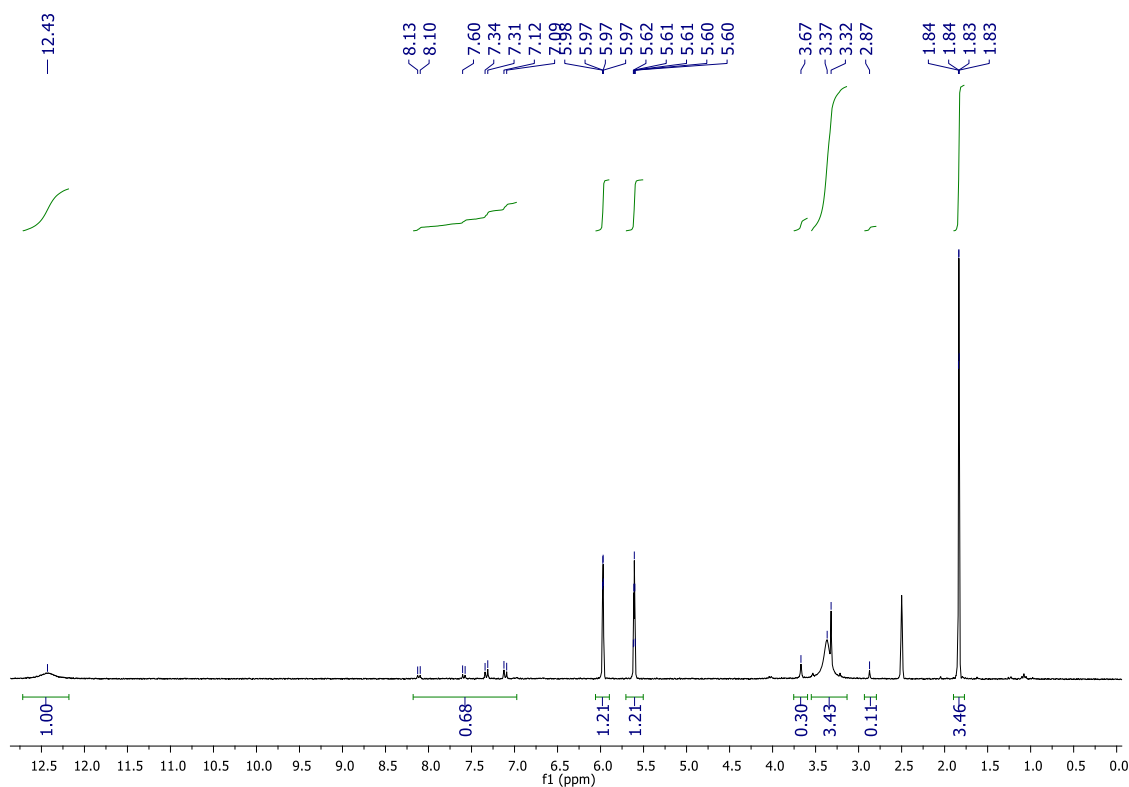
Fonte: autor do trabalho.

Figura 118 - Espectro de RMN de ^1H do monômero funcional MAA (DMSO- d_6 , 300 MHz).



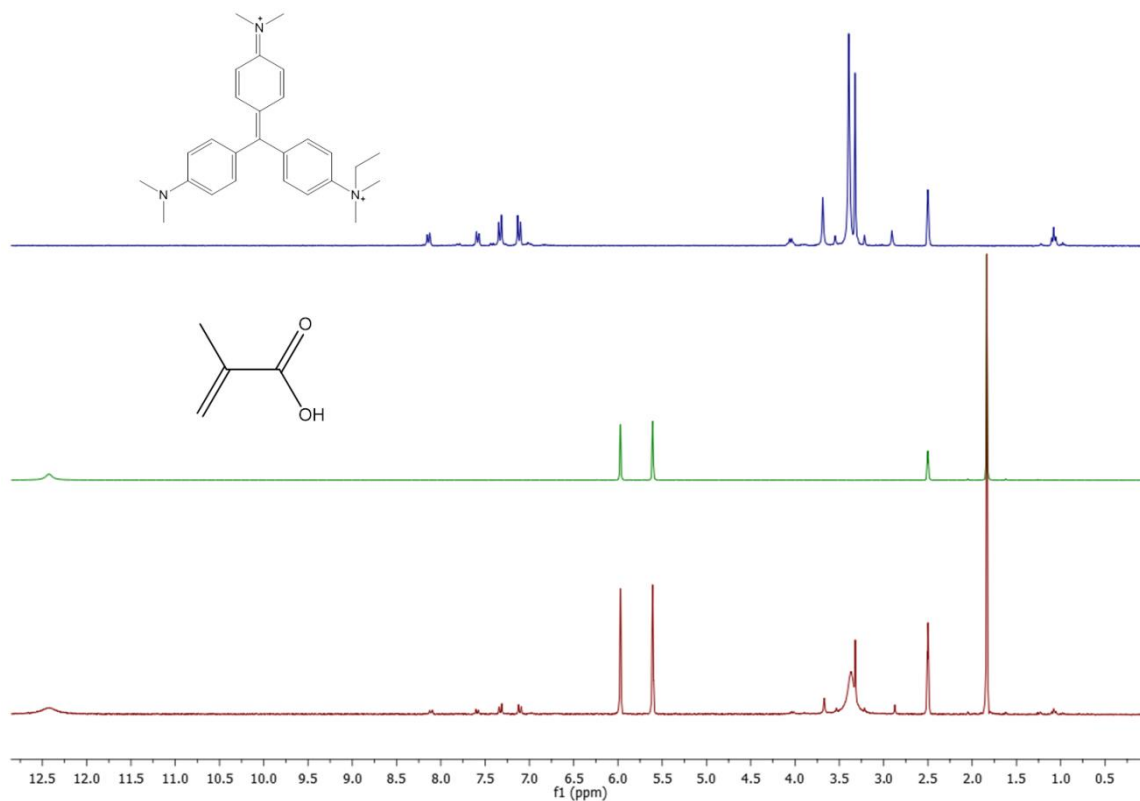
Fonte: autor do trabalho.

Figura 119 - Espectro de RMN de ^1H da mistura MG-MAA (DMSO- d_6 , 300 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

Figura 120 - Espectro de RMN de ^1H do corante MG (azul), do monômero funcional MAA (verde) e da mistura MG-MAA (vermelho) (DMSO- d_6 , 300 MHz).



Fonte: autor do trabalho.

Conforme observado nos espectros de RMN de ^1H , não ocorreu nenhuma interação entre o corante MG com o monômero MAA, uma vez que não houve nenhum deslocamento químico nos sinais do corante nem do monômero quando os dois compostos estavam em contato.

De uma maneira geral, o ácido metacrílico interage por meio de ligações de hidrogênio com a molécula molde do MIP. No entanto, o MG não apresenta nenhum sítio que favoreça esse tipo de interação.

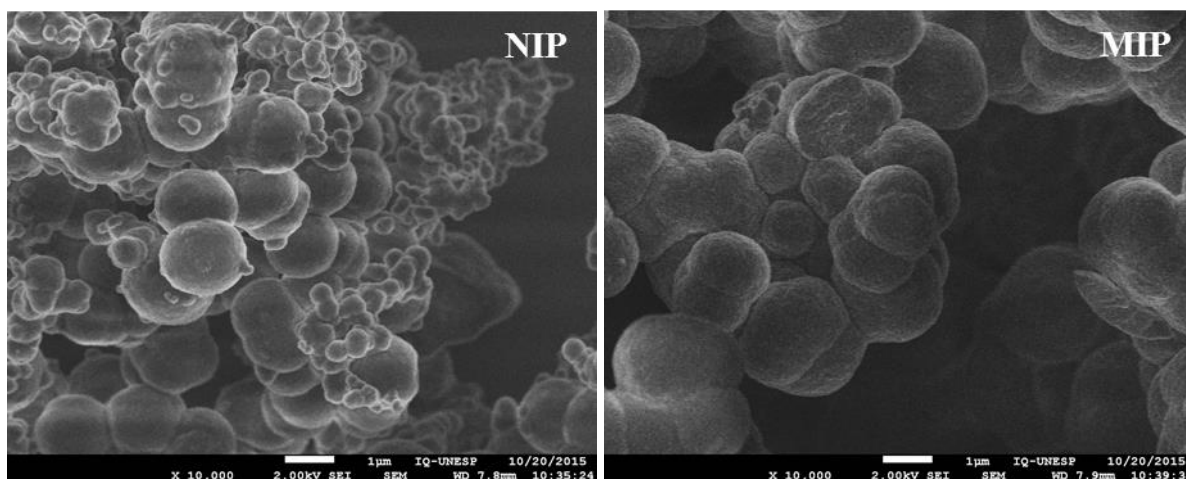
Sendo assim, nas etapas subsequentes, será avaliado somente o desempenho do MIP para o corante MG sintetizado com 1VI como monômero funcional.

4.3.5 Caracterização dos polímeros por microscopia eletrônica de varredura

As imagens de FEG-SEM da Figura 121 apresentam a morfologia dos polímeros para o corante MG.

As imagens mostra que NIP e MIP são formados por partículas esféricas aglomeradas. O MIP apresenta partículas no tamanho aproximado de $1,3 \pm 0,2 \mu\text{m}$ de diâmetro. Enquanto o NIP é composto por partículas menores ($0,40 \pm 0,06 \mu\text{m}$) de polímeros se aglomerando nas partículas maiores ($1,72 \pm 0,04 \mu\text{m}$).

Figura 121 - Imagens de FEG-SEM do NIP e MIP para o corante AG16.



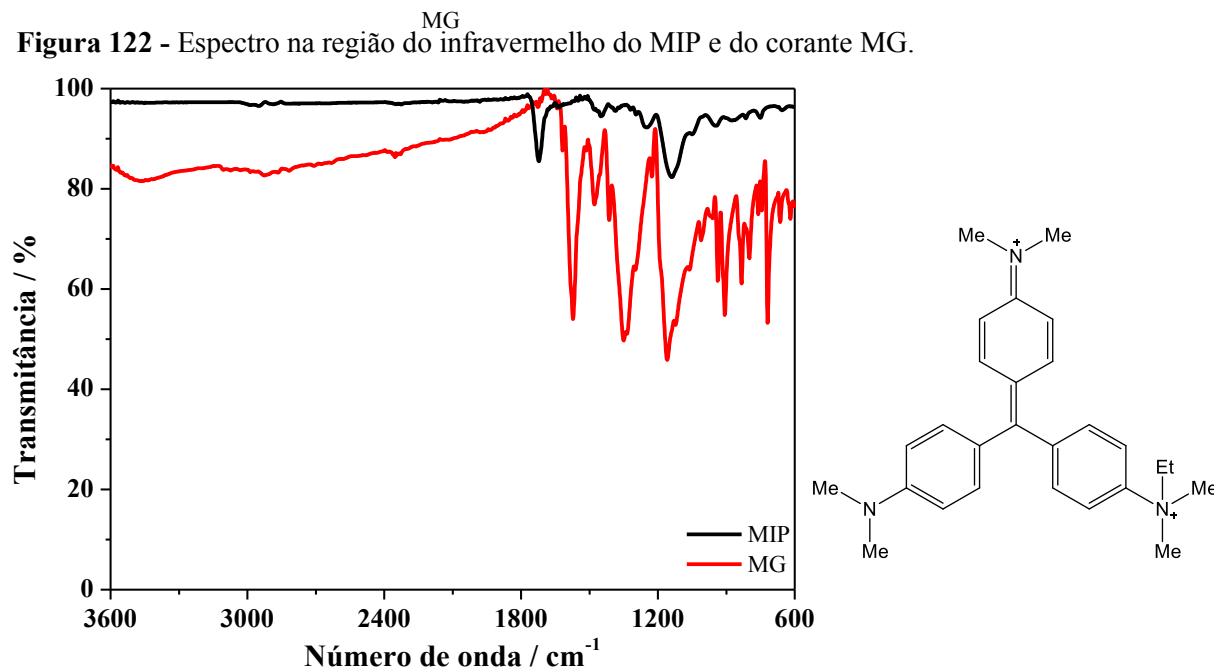
Fonte: autor do trabalho.

4.3.6 Caracterização do MIP por espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier

A Figura 122 apresenta o espectro de IV para o corante MG. As bandas características das aminas terciárias aparecem entre 1135 e 1146 cm^{-1} , além das bandas referentes aos anéis

aromáticos entre 1617 e 1437 cm^{-1} . O espectro em preto é referente ao MIP, que como esperado, não apresenta as bandas do corante MG, uma vez que a análise foi realizada após a remoção do corante da estrutura polimérica.

Figura 122 - Espectro na região do infravermelho do MIP e do corante MG.



Fonte: autor do trabalho.

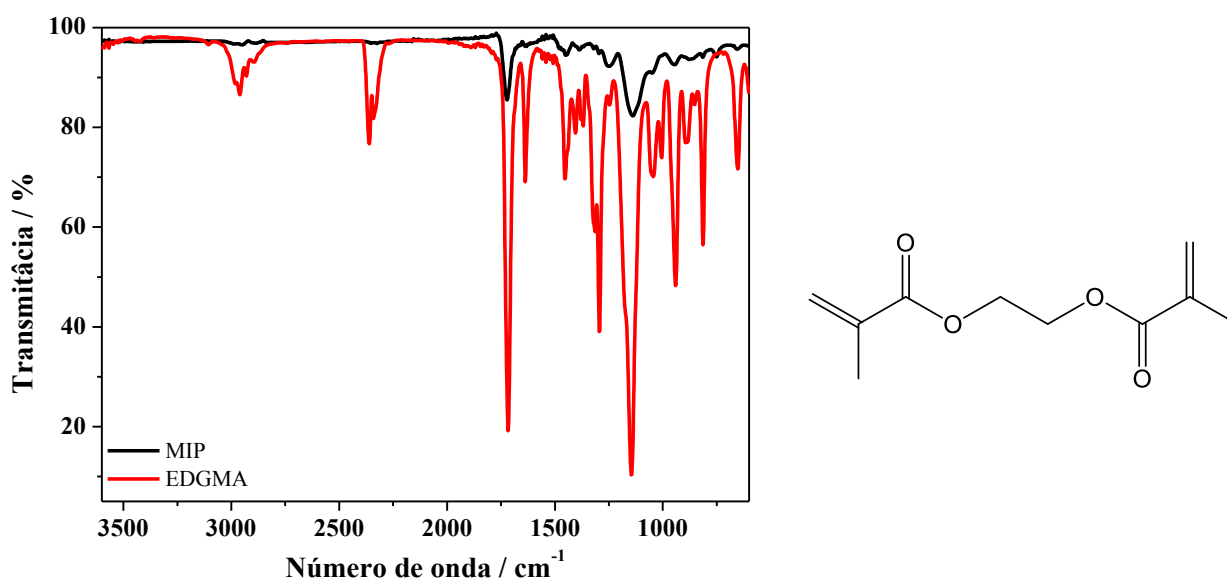
A Tabela 23 apresenta as atribuições às bandas encontradas no espectro do corante AG16, utilizado como molécula molde na síntese do MIP.

Tabela 23 - Bandas dos espectros de infravermelho da Figura 122 com as respectivas atribuições.

Banda (cm^{-1})	2985	1617-1437	1355	1146
Atribuição	ν C-H	ν C=C	ν C-N	δ_s C-H

Fonte: autor do trabalho.

A partir da Figura 123 observa-se que, assim como os polímeros descritos anteriormente, as principais bandas presentes no espectro no MIP são referentes ao monômero estrutural EGDMA, com as bandas características do grupo éster em 1716 e 1294 cm^{-1} , referentes ao estiramento da carbonila (C=O) e da ligação C-O respectivamente. Além da redução na intensidade do sinal referente à dupla ligação entre os carbonos em 1637 cm^{-1} devido à polimerização radicalar quebrar as duplas ligações. As atribuições às bandas referentes ao EGDMA são apresentadas na Tabela 12.

Figura 123 - Espectro na região do infravermelho do MIP lavado e do monômero estrutural EDGMA.

Fonte: autor do trabalho.

4.3.7 Análise da porosidade pelo método BET

Utilizando o método de BET, analisou-se a porosidade dos polímeros para o corante MG e os resultados obtidos são mostrados na Tabela 24.

Tabela 24 - Parâmetros obtidos pelo método BET para os MIP/NIP.

Polímero	Área superficial (m ² g ⁻¹)	Volume do poro (m ³ g ⁻¹)	Tamanho do poro (Å)
NIP	57,5774	0,032013	33,8
MIP	76,3172	0,027182	34,3

Fonte: autor do trabalho.

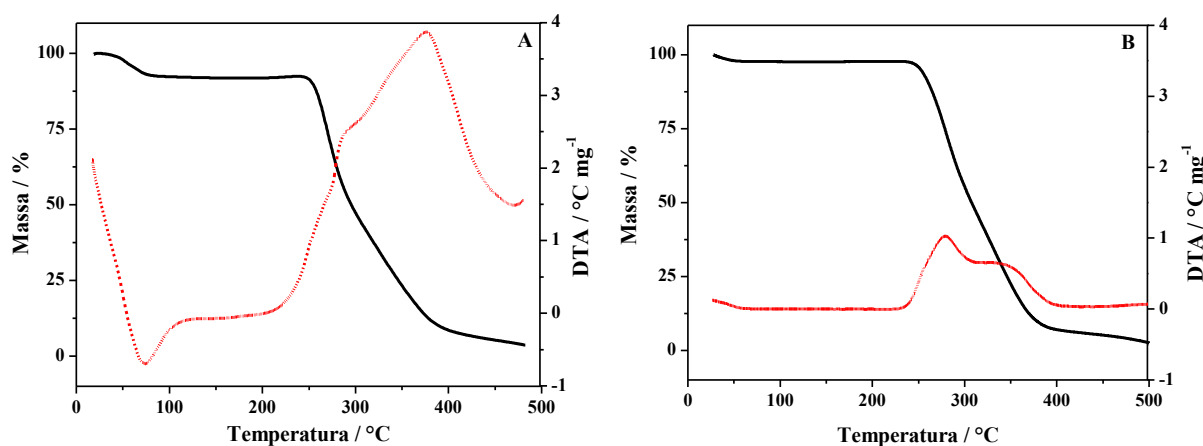
Os polímeros para o corante MG não apresentaram diferença significativa em relação à porosidade, sendo o MIP apresentou uma área superficial apenas 1,32 vezes maior que do NIP. Enquanto que o volume do poro do MIP foi 1,18 vezes inferior que do NIP. Esses dados levantam a suspeita de que as cavidades seletivas ao corante MG não foram formadas no polímero impresso. A verificação do desempenho do MIP quanto à religação do corante MG será realizada por meio de análise de ligação.

No entanto, analisando o tamanho dos poros dos polímeros é possível classificá-los como material mesoporoso, devido ao tamanho dos poros apresentarem valores próximos a 35 Å (Tabela 15).

4.3.8 Análise térmica dos polímeros

Análise termogravimétrica e térmica diferencial dos polímeros para o corante MG foram empregadas para verificar a estabilidade térmica (Figura 124).

Figura 124 - Análise termogravimétrica (preto) e análise térmica diferencial (vermelho) para o NIP (A) e MIP (B) para o corante BR9.



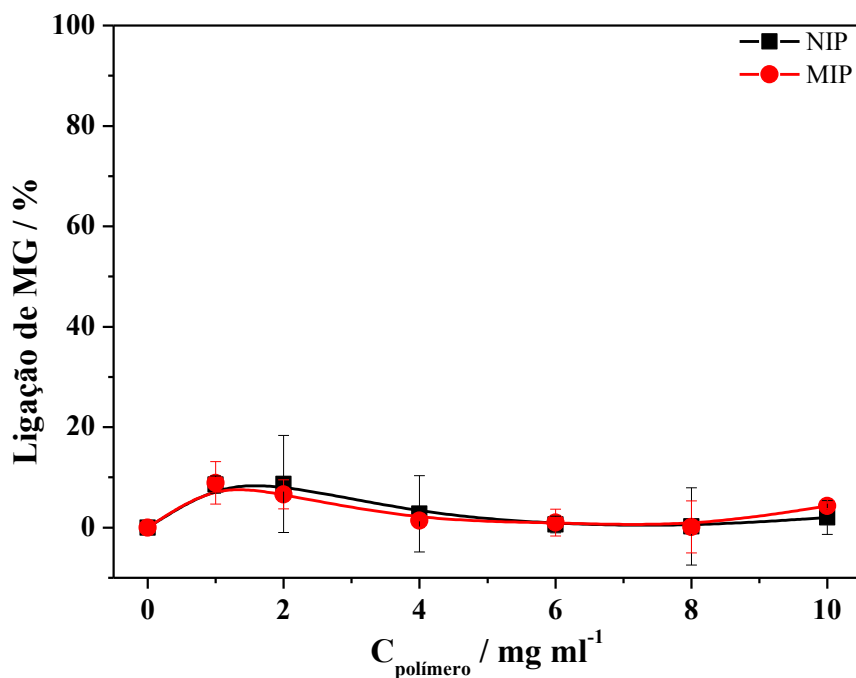
Fonte: autor do trabalho.

O MIP para o corante MG e o respectivo NIP apresentaram comportamento bastante semelhante aos polímeros dos demais corantes empregado neste trabalho. Observando-se a perda da água adsorvida na estrutura polimérica até 100 °C, estabilidade do material entre 100 e 250 °C e decomposição a partir de 245-250 °C, com picos exotérmicos segundo a análise de DTA. Mostrando que os polímeros são estáveis a temperaturas relativamente altas.

4.3.9 Estudo de ligação do corante MG aos polímeros

Depois de realizada todas as caracterizações dos polímeros, efetuou-se a avaliação do desempenho de religação do corante MG ao MIP. Inicialmente, foi realizada a análise de ligação variando a concentração de polímero e mantendo fixa a concentração do corante em 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com 1 h de interação (Figura 124).

Figura 125 - Análise de ligação entre o corante MG aos polímeros. Condições experimentais: concentração de corante $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ em água com tempo de interação de 1 h; $n = 3$.



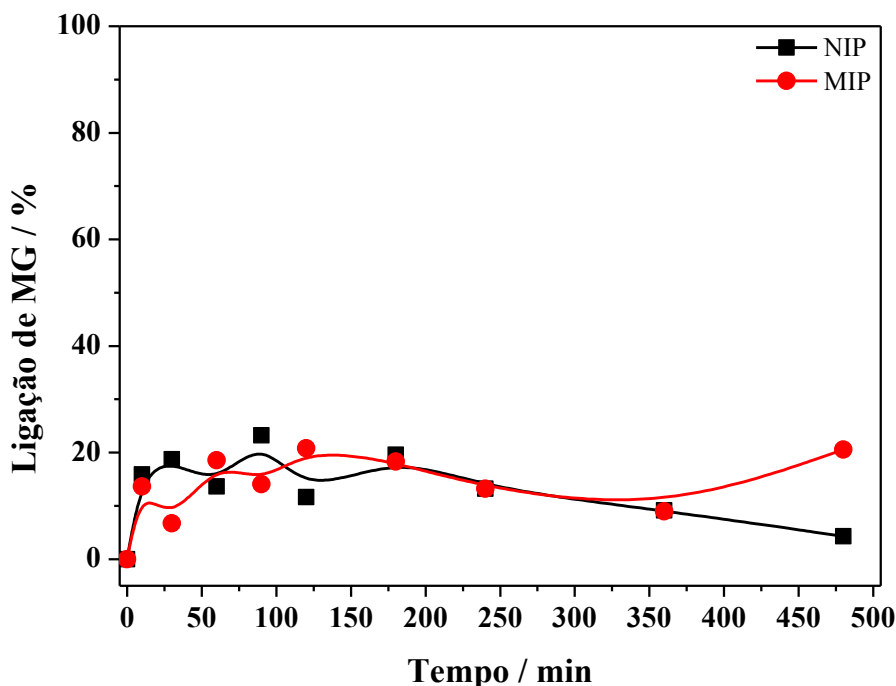
Fonte: autor do trabalho.

O resultado apresentado foi bastante insatisfatório, pois a porcentagem de ligação do corante MG aos polímeros foi muito baixa, não atingindo 10%. Além de não haver diferença entre a ligação ao NIP e MIP. Uma hipótese para tal resultado pode ser que o tempo de interação entre o analito e os polímeros foi baixo e não houve tempo para ocorrer a interação entre os compostos.

4.3.10 Avaliação do tempo de interação entre o corante MG e o MIP

Tendo em vista o resultado insatisfatório que a análise de ligação do corante MG ao MIP apresentou, foi realizado um estudo do tempo de interação entre o analito e os polímeros (Figura 126), com o objetivo de aumentar a porcentagem de ligação e ampliar a diferença entre a ligação do NIP e MIP.

Figura 126 - Estudo do tempo de interação do corante MG ao NIP (■) e MIP (●). Condições experimentais: concentração polimérica: 8 mg mL⁻¹; concentração de corante: 20 μmol L⁻¹ em água.



Fonte: autor do trabalho.

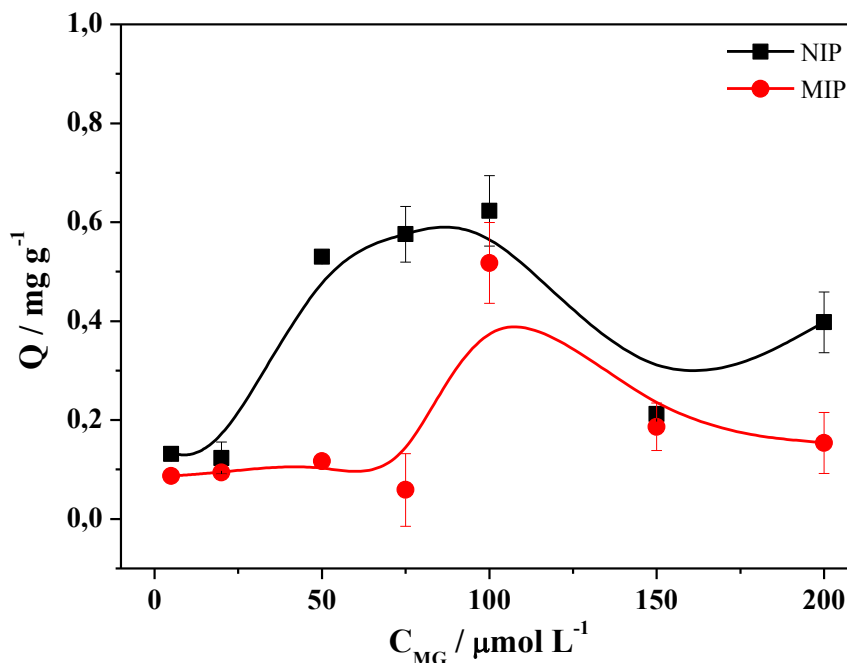
Mesmo empregando diferentes tempos de interação entre o corante MG e os polímeros, não houve aumento significativo no valor de porcentagem de ligação. Entre 5 e 180 min a porcentagem de ligação permaneceu praticamente constante. Uma pequena queda na quantidade de analito ligado é observada entre 240 e 360 min, enquanto que em 480 min houve um ligeiro aumento de corante ligado ao MIP (20%) e apresentou a maior diferenciação entre NIP e MIP (16%). Maiores tempo de análise não foram avaliados, pois inviabilizaria a aplicação deste MIP no objetivo do projeto, que é empregá-lo como reconhecedor de sensores ópticos.

No estudo subsequente, foi empregado o tempo de 8 h de interação entre o corante e os polímeros.

4.2.11 Isoterma de adsorção do corante MG aos polímeros

Realizou-se uma análise por meio da isoterma de adsorção do corante MG aos polímeros, objetivando verificar o comportamento dos polímeros em função da variação de concentração do analito. Para isso, realizou-se o estudo no intervalo de 5 a 200 μmol L⁻¹ do corante MG e fixou-se a concentração do polímero em 8 mg mL⁻¹ com interação de 8 h (Figura 127).

Figura 127 - Isoterma de adsorção do corante MG aos polímeros. Condições experimentais: concentração polimérica 8 mg mL⁻¹ em água e com tempo de interação de 8 h; n = 3.



Fonte: autor do trabalho.

O MIP não se mostrou eficiente para a religação do corante MG, uma vez que os valores de retenção foram muito inferiores ao esperado para um polímero impresso. Além disso, o corante reteve-se ligeiramente melhor ao NIP, evidenciando que as cavidades do MIP não foram formadas adequadamente.

De acordo com o resultado de porosidade realizado pelo método BET (seção 4.3.7), já era previsto que as cavidades não haviam se formado efetivamente, pois os valores de área superficial e volume do poro do NIP e MIP foram semelhantes.

Tendo em vista que o corante MG e o monômero funcional 1VI apresentam boa afinidade por meio de interação π -cátion, como mostrado pelos resultados de RMN (seção 4.3.4), era esperado que esse MIP apresentasse resultados satisfatórios. Provavelmente houve algum erro experimental durante a síntese desses polímeros ou algum problema com alguns dos reagentes empregados para a polimerização. Sendo assim, um novo lote de polímeros será produzido e, em seguida, serão realizadas novas caracterizações e análises para verificar a eficiência da religação do corante ao MIP.

5 CONCLUSÕES

Os polímeros molecularmente impressos apresentaram grande eficiência na determinação dos corantes BR9 e AG16. Uma vez que o MIP sintetizado para cada um desses corantes apresentou boa religação dos analitos às cavidades seletivas, alta seletividade frente aos demais corantes têxteis e eficácia na extração dos compostos de interesse quando aplicado em uma amostra de efluente industrial têxtil.

É preciso otimizar a síntese do MIP para o corante MG. Contudo, mesmo não obtendo os resultados esperados durante o projeto, novos experimentos com um novo lote de polímero e com diferentes proporções dos reagentes devem ser realizados, pois há grande expectativa de resultados satisfatórios baseando-se nos dados de RMN, que mostraram que o analito possui boa interação com o monômero 1-vinilimidazol.

No desenvolvimento e otimização de uma nova síntese de polímeros impressos, é sempre importante uma análise detalhada dos monômeros funcionais e da proporção entre os reagentes, uma vez que esses são fatores fundamentais para determinar o sucesso no desempenho de qualquer polímero impresso.

A imobilização sobre o feixe bifurcado de fibras ópticas de vidro via silanização ou oclusão não resultaram em dados relevantes mesmo após diversas metodologias e esforços empregados.

Por outro lado, a aplicação do MIP para o corante BR9 como elemento reconhecedor de sensores ópticos apresentou resultados satisfatórios quando imobilizado sobre a superfície de fibra óptica de poliestireno por oclusão utilizando PVA, mostrando que essa metodologia é promissora para a determinação de corante em amostras ambientais.

Portanto, com esse trabalho de doutoramento, foi possível concluir que o desenvolvimento de polímeros molecularmente impressos requer bastante esforço e estudo, porém apresenta resultados excelentes e seletivos. Além do MIP mostra-se viável na utilização como elemento reconhecedor de forma seletiva e sensível de sensores ópticos.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Otimizar a síntese do MIP para o corante MG;
- Realizar os estudos de religação, seletividade e aplicação em amostras de efluente industrial o MIP para o corante MG;
- Elaborar uma nova metodologia para acoplar as fibras ópticas de poliestireno ou polimetacrilato ao espectrofotômetro para a continuação das etapas do desenvolvimento do sensor óptico;
- Verificar a seletividade e eficácia do sensor biomimético óptico com polímeros impressos imobilizados sobre a fibra óptica na aplicação em amostras de interesse ambiental.

REFERÊNCIAS

- 1 KING, P. J.; STAGER, L. E. **Life in biblical Israel**. London: Westminster John Knox Press, 2002. 440 p.
- 2 GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, p. 71-78, 2000.
- 3 PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, p. 237-250, 2003.
- 4 SOCIETY OF DYERS AND COLOURISTS. **Colour index**: fourth edition online. Disponível em: <http://colour-index.com/assets/files/upl/CI_leaflet.pdf>. Acesso em: 25 out. 2015.
- 5 HE, Y.; GAO, J.; FENG, F.; LIU, C.; PENG, Y.; WANG, S. The comparative study on the rapid decolorization of azo, anthraquinone and triphenylmethane dyes by zero-valent iron. **Chemical Engineering Journal**, v. 179, p. 8-18, 2012.
- 6 TEIXEIRA, J. Cadeia volta a ter superávit. **Química e Derivados**, v. 412, p. 26-40, 2003.
- 7 SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J.; van LIER, J. B. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2369-2385, 2007.
- 8 ZOLLINGER, H. **Color chemistry**: synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments. 2nd ed. New York: Wiley-VCH, 1991. 637 p.
- 9 SILVA JUNIOR, H.; FREITAS, G. R. S.; NÉRI, D. R. F.; PEREIRA, F. R. S.; FARIAS, R. F.; PEREIRA, F. C. Monitoramento do corante pararosanilina em amostras biológicas. **Eclética Química**, v. 35, p. 147-156, 2010.
- 10 YANG, X.; WANG, J.; ZHAO, X.; WANG, Q.; XUE, R. Increasing manganese peroxidase production and biodecolorization of triphenylmethane dyes by novel fungal consortium. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10535-10541, 2011.
- 11 SHADI, I. T.; CHEUNG, W.; GOODACRE, R. Quantitative analysis of methyl green using surface-enhanced resonance Raman scattering. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 394, p. 1833-1838, 2009.
- 12 AYED, L.; CHAIEB, K.; CHEREF, A.; BAKHROU, A. Biodegradation and decolorization of triphenylmethane dyes by *Staphylococcus epidermidis*. **Desalination**, v. 260, p. 137-146, 2010.
- 13 BASIC red 9 monohydrochloride. **Report on Carcinogens**: Carcinogen Profiles, v. 12, p. 59-60, 2011.
- 14 NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. Toxicology and carcinogenesis studies of C.I. basic red 9 monohydrochloride (pararosaniline) (CASNo. 569-61-9) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). **National Toxicology Program Technical Report Series**, n. 285, p. 1-228, 1986.

- 15 DYE|WORLD DYE VARIETY. **Acid green 16**. Disponível em:
<<http://www.worlddyevariety.com/acid-dyes/acid-green-16.html>> Acesso em: 02 ago. 2015.
- 16 WRONSKA-NOFER, T.; WISNIEWSKA-KNYPL, J.; WYSZYNSKA, K.; DZIUBAŁTOWSKA, E. Genotoxicity of industrial dyes under the inductive effect of ethanol on monooxygenase system in mice. **Mutation Research**, v. 392, p. 229-235, 1997.
- 17 NEZAMZADEH-EJHIEH, A.; SHAMS-GHAHFAROKHI, Z. Photodegradation of methyl green by nickel-dimethylglyoxime/ZSM-5 zeolite as a heterogeneous catalyst. **Journal of Chemistry**, v. 2013, 2013. doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2013/104093>.
- 18 YANG, X. Q.; ZHAO, X. X.; LIU, C. Y.; ZHENG, Y.; QIAN, S. J. Decolorization of azo, triphenylmethane and anthraquinone dyes by a newly isolated *Trametes* sp. SQ01 and its laccase. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 1185-1189, 2009.
- 19 SILVA, G. H.; SILVA, G. L.; ABREU, C. A. M.; SILVA, V. L.; MOTTA, M. Estudo da cinética de adsorção de um corante de efluente de indústria têxtil por argilas esmectitas da região do Araripe-PE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 23, 2005, Campo Grande. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 2005. CD-ROM.
- 20 KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, p. 78-82, 2002.
- 21 GIORDANO, G. **Tratamento e controle de efluentes industriais**. Disponível em:
<https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CB8QFjAAahUKEwjY-N318PvIAhXFPD4KHQAOb1w&url=http%3A%2F%2Fxa.yimg.com%2Fkq%2Fgroups%2F24138517%2F1421219182%2Fname%2FApostila%2B%2BTratamento%2Bde%2Befluents%2Bindustriais.pdf&usg=AFQjCNFXT_GbIwyi4PaqtiJLVPO8EYj9Ew>. Acesso em: 03 out. 2015.
- 22 MARTINS, A. O.; CANALLI, V. M.; AZEVEDO, C. M. N.; PIRES, M. Degradation of pararosaniline (C.I. basic red 9 monohydrochloride) dye by ozonation and sonolysis. **Dyes and Pigments**, v. 68, p. 227-234, 2006.
- 23 CHEN, C.-C.; FAN, H.-J.; JANG, C.-Y.; JAN, J.-L.; LIN, H.-D.; LU, C.-S. Photooxidative *N*-de-methylation of crystal violet dye in aqueous nano-TiO₂ dispersions under visible light irradiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 184, p. 147-154, 2006.
- 24 ABIDI, S. L. High-performance liquid chromatography of quinoidal imminium compounds derived from triphenylmethanes. **Journal of Chromatography**, v. 255, p. 101-114, 1983.
- 25 HUANG, M.; RUSSO, R.; FOOKES, B. G.; SIGMAN, M. E. Analysis of fiber dyes by liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) with electrospray ionization: discriminating between dyes with indistinguishable UV-visible absorption spectra. **Journal of Forensic Sciences**, v. 50, p. 1-9, 2005.

- 26 FENG, F.; ZHAO, Y.; YONG, W.; SUN, L.; JIANG, G.; CHU, X. Highly sensitive and accurate screening of 40 dyes in soft drinks by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 879, p. 1813-1818, 2011.
- 27 ROMÁN, D. A.; EFREMOV, E.; ARIESE, F.; CARRETERO, A. S.; GOOIJER, C. Interfacing capillary electrophoresis and surface-enhanced resonance Raman spectroscopy for the determination of dye compounds. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, p. 180-185, 2005.
- 28 PRABAKARAN, E.; PANDIAN, K. Amperometric detection of sudan I in red chili powder samples using Ag nanoparticles decorated graphene oxide modified glassy carbon electrode. **Food Chemistry**, v. 166, p. 198-205, 2015.
- 29 BOBROWSKI, A.; ZAREBSKI, J.; TESAROWICZ, I. Bismuth film electrodes for adsorptive stripping voltammetric determination of sunset yellow FCF in soft drinks. **Electroanalysis**, v. 26, p. 756-765, 2014.
- 30 CHAO, M.; MA, X. Convenient electrochemical determination of sunset yellow and tartrazine in food samples using a poly(L-phenylalanine)-modified glassy carbon electrode. **Food Analytical Methods**, v. 8, p. 130-138, 2015.
- 31 YANG, J.; ROCHA, C. G.; WANG, S.; FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H. A label free-impedimetric immunosensor for direct determination of the textile dye disperse orange I. **Talanta**, v. 142, p. 183-189, 2015.
- 32 LIU, Z.; ZHAI, H.; CHEN, Z.; ZHOU, Q.; LIANG, Z.; SU, Z. Simultaneous determination of orange G and orange II in industrial wastewater by a novel Fe₂O₃/MWCNTs-COOH/OP modified carbon paste electrode. **Electrochimica Acta**, v. 136, p. 370-376, 2014.
- 33 XIAO, F.; ZHANG, N.; GU, H.; QIAN, M.; BAI, J.; ZHANG, W.; JIN, L. A monoclonal antibody-based immunosensor for detection of sudan I using electrochemical impedance spectroscopy. **Talanta**, v. 84, p. 204-211, 2011.
- 34 HERMANSON, G. T. **Bioconjugate techniques**. 2nd ed. Rockford: Elsevier, 2008. 1202 p.
- 35 DONG, Y.; ZHANG, J.; XING, Y.; SONG, Z.; WANG, Y.; MENG, M.; DENG, C.; TONG, Z.; YIN, Y.; XI, R. Quantification of ponceau 4R in foods by indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (icELISA). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 6338-6345, 2015.
- 36 FIROOZ, A. R.; ENSAFI, A. A.; KAZEMIFARD, N.; KHALIFEH, R. Development of a highly sensitive and selective optical sensor for determination of ultra-trace amount of silver ions. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 176, p. 598-604, 2013.
- 37 HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, p. 1247-1250, 1991.
- 38 NEUMAN, M. R. Physical and chemical sensors for medical instrumentation. **Medical Progress Technology**, v. 9, p. 95-104, 1982.

- 39 TAITT, C. R.; ANDERSON, G. P.; LIGLER, F. S. Evanescent wave fluorescence biosensors: advances of the last decade. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 76, p. 103-112, 2016.
- 40 ANDERSON, G. P.; TAITT, C. T. Evanescent wave fiber optic biosensors. In: LIGLER, F. S.; TAITT, C. R. (Ed.). **Optical biosensors: today and tomorrow**. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2008. Chap. 2, p. 83-138.
- 41 BORMAN, S. A. Optrodes: the sample stays in the factory, the instrument stays in the lab. **Analytical Chemistry**, v. 53, p. 1616-1618, 1981.
- 42 BOSCH, M. E.; SÁNCHEZ, A. J. R.; ROJAS, F. S.; OJED, C. B. Recent development in optical fiber biosensors. **Sensors**, v. 7, p. 797-859, 2007.
- 43 McCOSKER, R. J.; TOW, G. E. Multi-channel directional coupler as an evanescent field optical sensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 150, p. 417-424, 2010.
- 44 SOTOMAYOR, M. P. T. **Construção e aplicação de optodos em sistemas analíticos baseados em variações de pH**. 2000. 188 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.
- 45 ARGHIR, I.; SPASIC, D.; VERLINDEN, B. E.; DELPORT, F.; LAMMERTYN, J. Improved surface plasmon resonance biosensing using silanized optical fibers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 216, p. 518-526, 2015.
- 46 ABBASITABAR, F.; ZARE-SHAHABADI, V.; SHAMSIPUR, M.; AKHOND, M. Development of an optical sensor for determination of zinc by application of PC-ANN. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 156, p. 181-186, 2011.
- 47 HASHEMI, P.; ABOLGHASEM, M. M. Preparation of a novel optical sensor for low pH values using agarose membranes as support. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 115, p. 49-53, 2006.
- 48 TAN, S.-Z.; HU, Y.-J.; CHEN, J.-W.; SHEN, G.-L.; YU, R.-Q. An optical sensor based on covalent immobilization of 1-aminopyrene using Au nanoparticles as bridges and carrier. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 124, p. 68-73, 2007.
- 49 ORELLANA, G.; HAIGH, D. New trends in fiber-optic chemical and biological sensors. **Current Analytical Chemistry**, v. 4, p. 273-295, 2008.
- 50 SALAMA, O.; HERRMANN, S.; TZIKNOVSKY, A.; PIURA, B.; MEIROVICH, M.; TRAKHT, I.; REED, B.; LOBEL, L. I.; MARKS, R. S. Chemiluminescent optical fiber immunosensor for detection of autoantibodies to ovarian and breast cancer-associated antigens. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, p. 1508-1516, 2007.
- 51 NIU, S.-Y.; LI, Q.-Y.; REN, R.; ZHANG, S.-S. Enzyme-enhanced fluorescence detection of DNA on etched optical fibers. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, p. 2943-2946, 2009.

- 52 AZIZ, A. A. A.; SEDA, S. H.; MOHAMMED, S. F. Design of a highly sensitive and selective bulk optode based on fluorescence enhancement of N,N-bis-(1-hydroxyphenylimine)2,2-pyridil Schiff base: monitoring of zinc(II) ion in real samples and DFT calculation. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 223, p. 566-575, 2016.
- 53 NGUYEN, T. H.; HARDWICK, S. A.; SUN, T.; GRATTAN, K. T. V. Intrinsic fluorescence-based optical fiber sensor for cocaine using a molecularly imprinted polymer as the recognition element. **IEEE Sensors Journal**, v. 12, p. 255-260, 2012.
- 54 POLYAKOV, M. V. The question of possible transition of a catalytic reaction from surface into space. **Zhurnal Fizicheskoi Khimii**, v. 3, p. 201-203, 1932.
- 55 CORMACK, P. A. G.; HAUPT, K.; MOSBACH, K. Affinity separation: imprint polymers. In: WILSON, I. D.; POOLE, C.; COOKE, M. (Ed.). **Encyclopedia of separation science**. Amsterdam: Elsevier, 2000. p. 288-296.
- 56 SILVA, B. V. M.; RODRÍGUEZ, B. A. G.; SALES, G. F.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; DUTRA, R. F. An ultrasensitive human cardiac troponin T graphene screen-printed electrode based on electropolymerized-molecularly imprinted conducting polymer. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 77, p. 978-985, 2016.
- 57 TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; KUBOTA, L. T. Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 1: preparo e aplicação de MIP ("Molecularly Imprinted Polymers") em técnicas de extração e separação. **Química Nova**, v. 28, p. 1076-1086, 2005.
- 58 WULFF, G.; SARHAN, A. Use of polymers with enzyme-analogous structures for resolution of racemates. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 11, p. 341, 1972.
- 59 TAKAGISHI, T.; KLOTZ, I. M. Macromolecule-small molecule interactions: introduction of additional binding-sites in polyethyleneimine by disulfide crosslinkages. **Biopolymers**, v. 11, p. 483-491, 1972.
- 60 VERLI, H.; BARREIRO, E. J. Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores. **Química Nova**, v. 28, p. 95-102, 2005.
- 61 SOUSA, M. D.; BARBOSA, C. M. Polímeros com capacidade de reconhecimento molecular no controlo da libertação de fármacos. Parte 1: síntese e caracterização. **Química Nova**, v. 32, p. 1609-1619, 2009.
- 62 KINDSCHY, L. M.; ALOCILJA, E. C. A molecularly imprinted polymer on indium tin oxide and silicon. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 20, p. 2163-2167, 2005.
- 63 HAUPT, K. **Molecularly imprinted polymers**: general principle of molecular imprinting. Compiègne: Université de Technologie Compiègne. Disponível em: <http://www.utc.fr/~wmpi/index.php?option=com_content&view=article&id=4&Itemid=8> Acesso em: 04 ago. 2014.
- 64 PEÇANHA, B. R. B. **Síntese de polímeros de impressão molecular e sua aplicação na técnica de extração em fase sólida**. 2012. 61 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Monitoramento de Produtos para a Saúde) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

- 65 CORMACK, P. A. G.; ELORZA, A. Z. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterization. **Journal of Chromatography B**, v. 804, p. 173-182, 2004.
- 66 KOMIYAMA, M.; TAKEUSHI, T.; MUKAWA, T.; ASANUMA, H. **Molecular imprinting from fundamentals to applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. 159 p.
- 67 KAREUHANON, W.; LEE, V. S.; NIMMANPIPUG, P.; TAYAPIWATANA, C.; PATTARAWARAPAN, M. Synthesis of molecularly imprinted polymers for nevirapine by dummy template imprinting approach. **Cromatographia**, v. 70, p. 1531-1537, 2009.
- 68 CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnologia e engenheiros**. 2. ed. São Paulo: Artiber, 2006. 280 p.
- 69 FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C. B.; ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 361-375, 2008.
- 70 SELLERGREN, B.; HALL, A. J. Fundamental aspects on the synthesis and characterization of imprinted network polymers. In: SELLERGREN, B. (Ed.). **Molecularly imprinted polymers: man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry**. Amsterdam: Elsevier Science, 2003. Chap. 2, p. 21-57.
- 71 HE, C.; LONG, Y.; PAN, J.; LI, K.; LIU, F. Application of molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of analytes from real samples. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, p. 133-150, 2007.
- 72 HAUPT, K.; MOSBACH, K. Molecularly imprinted polymers in chemical and biological sensing. **Biochemical Society Transactions**, v. 27, p. 344-350, 1999.
- 73 ANDERSSON, H. S.; NICHOLLS, I. A. A historical perspective of the development of molecular imprinting. In: SELLERGREN, B. (Ed.). **Molecularly imprinted polymers: man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry**. Amsterdam: Elsevier Science, 2003. Chap. 1, p. 1-19.
- 74 QIUJIN, Z.; LIPING, W.; SHENGFANG, W.; WASSWA, J.; XIAOHONG, G.; JIAN, T. Selectivity of molecularly imprinted solid phase extraction for sterol compounds. **Food Chemistry**, v. 113, p. 608-615, 2009.
- 75 PUOCI, F.; GARREFFA, C.; IEMMA, F.; MUZZALUPO, R.; SPIZZIRRI, U. G.; PICCI, N. Molecularly imprinted solid phase extraction for detection of sudan I in food matrices. **Food Chemistry**, v. 93, p. 349-353, 2005.
- 76 YAN, S.; GAO, Z.; FANG, Y.; CHENG, Y.; ZHOU, H.; WANG H. Characterization and quality assessment of binding properties of malachite green molecularly imprinted polymers prepared by precipitation polymerization in acetonitrile. **Dyes and Pigments**, v. 74, p. 572-577, 2007.
- 77 SU, L. Q.; QIAO, S.; ZHANG, W. B. Studies on the synthesis and properties of malachite green imprinted polymer. **Chinese Chemical Letters**, v. 18, p. 229-232, 2007.

- 78 LI, Y.-H.; YANG, T.; QI, X.-L.; QIAO, Y.-W.; DENG, A.-P. Development of a group selective molecularly imprinted polymers based solid phase extraction of malachite green from fish water and fish feed samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 624, p. 317-325, 2008.
- 79 LONG, C.; MAI, Z.; YANG, Y.; ZHU, B.; XU, X.; LU, L.; ZOU, X. Determination of multi-residue for malachite green, gentian violet and their metabolites in aquatic products by high-performance liquid chromatography coupled with molecularly imprinted solid-phase extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 2275-2281, 2009.
- 80 BAGGIANI, C.; ANFOSSI, L.; BARAVALLE, P.; GIOVANNOLI, C.; GIRAUDI, G.; BAROLO, C.; VISCARDI, G. Determination of banned sudan dyes in food samples by molecularly imprinted solid phase extraction-high performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 32, p. 3292-3300, 2009.
- 81 AL-DEGS, Y. S.; Abu-SURRAH, A. S.; IBRAHIM, K. A. Preparation of highly selective solid-phase extractants for cibacron reactive dyes using molecularly imprinted polymers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, p. 1055-1062, 2009.
- 82 KYZAS, G. Z.; BIKIARIS, D. N.; LAZARIDIS, N. K. Selective separation of basic and reactive dyes by molecularly imprinted polymers (MIPs). **Chemical Engineering Journal**, v. 149, p. 263-272, 2009.
- 83 LUO, X.; ZHAN, Y.; TU, X.; HUANG, Y.; LUO, S.; YAN, L. Novel molecularly imprinted polymer using 1-(α -methyl acrylate)-3-methylimidazolium bromide as functional monomer for simultaneous extraction and determination of water-soluble acid dyes in wastewater and soft drink by solid phase extraction and high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 1115-1121, 2011.
- 84 LUO, X.; ZHAN, Y.; HUANG, Y.; YANG, L.; TU, X.; LUO, S. Removal of water-soluble acid dyes from water environment using a novel magnetic molecularly imprinted polymer. **Journal of Hazardous Materials**, v. 187, p. 274-282, 2011.
- 85 YAN, H.; QIAO, J.; PEI, Y.; LONG, T.; DING, W.; XIE K. Molecularly imprinted solid-phase extraction coupled to liquid chromatography for determination of sudan dyes in preserved bean curds. **Food Chemistry**, v. 132, p. 649-654, 2012.
- 86 PIAO, C.; CHEN, L. Separation of sudan dyes from chilli powder by magnetic molecularly imprinted polymer. **Journal of Chromatography A**, v. 1268, p. 185-190, 2012.
- 87 HU, X.; FAN, Y.; ZHANG, Y.; DAI, G.; CAI, Q.; CAO, Y.; GUO, C. Molecularly imprinted polymer coated solid-phase microextraction fiber prepared by surface reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization for monitoring of sudan dyes in chilli tomato sauce and chilli pepper samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 731, p. 40-48, 2012.
- 88 LI, M.; LI, R.; TAN, J.; JIANG, Z.-T. Titania-based molecularly imprinted polymer for sulfonic acid dyes prepared by sol-gel method. **Talanta**, v. 107, p. 203-210, 2013.
- 89 ZHAN, J.; FANG, G.; YAN, Z.; PAN, M. Preparation of a semicovalent, molecularly surface imprinted polymer for the rapid determination of trace acid orange II in food and environmental samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, p. 6353-6363, 2013.

- 90 LI, X.; LI, M.; LI, J.; LEI, F.; SU, X.; LIU, M.; LI, P.; TAN, X. Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers with modified rosin as a crosslinker and selective SPE-HPLC detection of basic orange II in foods. **Analytical Methods**, v. 6, p. 6397-6406, 2014.
- 91 REN, D.; HE, J.; ZHANG, H. Synthesis, characterization and evaluation of hollow molecularly imprinted polymers for Sudan I. **Analytical Methods**, v. 6, p. 3079-3085, 2014.
- 92 SU, X.; LI, X.; LI, J.; LIU, M.; LEI, F.; TAN, X.; LI, P.; LUO, W. Synthesis and characterization of core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and determination of rhodamine B in food. **Food Chemistry**, v. 171, p. 292-297, 2015.
- 93 CHEN, S.; DU, D.; HUANG, J.; ZHANG, A.; TU, H.; ZHANG, A. Rational design and application of molecularly imprinted sol-gel polymer for the electrochemically selective and sensitive determination of sudan I. **Talanta**, v. 84, p. 451-456, 2011.
- 94 SOYSAL, M.; MUTI, M.; ESEN, C.; GENÇDAĞ, K.; ASLAN, A.; ERDEM, A.; KARAGCZLER, A. E. A novel and selective methylene blue imprinted polymer modified carbon paste electrode. **Electroanalysis**, v. 25, p. 1278-1285, 2013.
- 95 PICHON, V.; CHEN, L.; HENNION, M.; DANIEL, R.; MARTEL, A.; LEGOFFIC, F.; ABIAN, J.; BARCELO, D. Preparation and evaluation of immunosorbents for selective trace enrichment of phenylurea and triazine herbicides in environmental waters bioselective preconcentration for trace analysis of pesticides in environmental samples. **Analytical Chemistry**, v. 67, p. 2451-2460, 1995.
- 96 GORMACK, P. A. G.; ELIRZA, A. Z. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. **Journal of Chromatography B**, v. 804, p. 173-182, 2004.
- 97 ANDERSSON, H. S.; RAMSTRÖM, O. Crown ethers as a tool for the preparation of molecularly imprinted polymers. **Journal of Molecular Recognition**, v. 11, p. 103-106, 1998.
- 98 YIN, J.; MENG, Z.; DU, M.; LIU, C.; SONG, M.; WANG, H. Pseudo-template molecularly imprinted polymer for selective screening of trace β -lactam antibiotics in river and tap water. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 5420-5426, 2010.
- 99 VALERO-NAVARRO, A.; MEDINA-CASTILLO, A. L.; FERNANDEZ-SANCHEZ, J. F.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Synthesis of a novel polyurethane-based-magnetic imprinted polymer for the selective optical detection of 1-naphthylamine in drinking water. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, p. 4520-4525, 2011.
- 100 YAN, H.; ROWA, K. H.; YANG, G. Water-compatible molecularly imprinted polymers for selective extraction of ciprofloxacin from human urine. **Talanta**, v. 75, p. 227-232, 2008.
- 101 TAGLIAFERRO, G. V.; PEREIRA, P. H. F.; RODRIGUES, L. A.; SILVA, M. L. C. P. Adsorção de chumbo, cádmio e prata em óxido de nióbio (V) hidratado preparado pelo método da precipitação em solução homogênea. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 101-105, 2011.

- 102 FOGUEL, M. V.; TON, X.-A.; ZANONI, M. V. B.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; HAUPT, K.; TSE SUM BUI, B. A molecularly imprinted polymer-based evanescent wave fiber optic sensor for the detection of basic red 9 dye. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 218, p. 222-228, 2015.
- 103 KAMEL, A. H.; MAHMOUD, W. H.; MOSTAFA, M. S. Biomimetic ciprofloxacin sensors made of molecularly imprinted network receptors for potential measurements. **Analytical Methods**, v. 3, p. 957-964, 2011.
- 104 QIUJIN, Z.; LIPING, W.; SHENGFANG, W.; WASSWA, J.; XIAOHONG, G.; JIAN, T. Selectivity of molecularly imprinted solid phase extraction for sterol compounds. **Food Chemistry**, v. 113, p. 608-615, 2009.
- 105 ZHANG, Z.; LI, H.; LIAO, H.; NIE, L.; YAO, S. Influence of cross-linkers' amount on the performance of the piezoelectric sensor modified with molecularly imprinted polymers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 105, p. 176-182, 2005.
- 106 YILMAZ, E.; MOSBACH, K.; HAUPT, K. Influence of functional and cross-linking monomers and the amount of template on the performance of molecularly imprinted polymers in binding assays. **Analytical Communications**, v. 36, p. 167-170, 1999.
- 107 POMA, A.; TURNER, A. P. F.; PILETSKY, S. A. Advances in the manufacture of MIP nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, v. 28, p. 629-637, 2010.
- 108 SOUZA, A. A.; LAVERDE JUNIOR, A. Aplicação da espectroscopia de ressonância magnética nuclear para estudos de difusão molecular em líquidos: a técnica DOSY. **Química Nova**, v. 25, p. 1022-1026, 2002.
- 109 SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. 490 p.
- 110 PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 700 p.
- 111 LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.
- 112 LARKIN, P. J. **IR and raman spectroscopy: principles and spectral interpretation**. San Diego: Elsevier, 2011. 228 p.
- 113 TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, v. 24, p. 808-818, 2001.
- 114 GREGG, S. J.; SING, K. S. W. Introduction. In: _____. **Adsorption, surface area and porosity**. 2nd ed. London: Academic Press, 1982. Chap. 1, p. 1-39.

115 PORPINO, K. K. P. **Biossorção de Fe(II) em casa de caranguejo *Ucides cordatus***. 2009. 93 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

116 ZAHARIA, C.; SUTEU, D. Textile organic dyes: characteristics, polluting effects and separation/elimination procedures from industrial effluents: a critical overview. In: PUZYN, T.; MOSTRAG-SZLICHTYNG, A. (Ed.). **Organic pollutants ten years after the Stockholm Convention**: environmental and analytical update. Rijeka: InTech, 2012. Chap. 3, p. 55-86.