

LUIS FERNANDO TAVARES BORGES

**Desenvolvimento e otimização de um polímero molecularmente impresso (MIP)
para separação de xilose de resíduos sólidos da agricultura através de
extração em fase sólida dispersiva (DSPE)**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Profa. Dra. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor

Coorientador: Dr. Ademar Wong

Araraquara

2023

B732d Borges, Luis Fernando Tavares

 Desenvolvimento e otimização de um polímero molecularmente impresso
(MIP) para separação de xilose de resíduos sólidos da agricultura através de
extração em fase sólida dispersiva (DSPE) / Luis Fernando Tavares Borges. --
Araraquara, 2023

 89 f. : il.

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto
de Química, Araraquara

 Orientadora: Maria Del Pilar Taboada Sotomayor

 Coorientador: Ademar Wong

 1. Açúcares. 2. Polímeros. 3. Materiais biomiméticos. 4. Resíduos sólidos. 5.
Purificação. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃOTÍTULO DA
DISSERTAÇÃO:

"Desenvolvimento e otimização de um polímero molecularmente impresso (MIP) para separação de xilose de resíduos sólidos da agricultura através de extração em fase sólida dispersiva (DSPE)"

AUTOR: LUÍS FERNANDO TAVARES BORGES**ORIENTADORA: MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR****COORIENTADOR: ADEMAR WONG**

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

Prof.^a Dr.^a MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. MICHEL BRIENZO (Participação Virtual)
Laboratório de Caracterização de Biomassa / Instituto de Pesquisa em Bioenergia - UNESP - Rio Claro

Prof. Dr. JOAO FLAVIO DA SILVEIRA PETRUCI (Participação Virtual)
Instituto de Química / Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia - UFU - Uberlândia

Araraquara, 27 de janeiro de 2023

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Luis Fernando Tavares Borges

Nome em citações bibliográficas: L.F.T. Borges ou Borges, L. F. T.

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2020 - 2022: Mestrado em Química – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Título da dissertação: “Desenvolvimento e otimização de um Polímero Molecularmente Impresso para separação de Xilose de resíduos da agricultura através de Extração em Fase Sólida Dispersiva”. Aluno pelo Programa de Pós-Graduação em Química (IQ – Araraquara) e vinculado à bolsa CAPES nº 88887.581736/2020-00. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor.

2020: Pós-graduação Lato Sensu em Matemática e Biologia: Faculdade Venda Nova do Imigrante (FAVENI). Duração 620 horas, formato online. Submissão do Trabalho de Conclusão de Curso “**Ensino de matemática e a abordagem interdisciplinar**”.

2014 - 2018: Licenciatura em Química – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Presidente Prudente. Aluno de iniciação científica pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) com o projeto: " $M_2-xEu_xSiO_4$ (M = Sr, Ca ou Ba) via sol-gel visando aplicação em WLEDs RGB."

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

- **Capítulo de livro:** S. Khan, S. Zeb, **L.F.T. Borges**, J. Vega-Chacón, S.E. Torres, S.Q. Martínez, R. López, I.M.M. Mejía, C.R.J. Hernández, J.E.J. Cornejo, C. Pizan–Aquino, B. Mortari, M.D.P.T. Sotomayor, G. Picasso. Non-toxic nature of nano-biosorbents as a positive approach towards green environment, in “Nano-biosorbents for decontamination of water, air and soil pollution”. Editora Elsevier, 2022.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

- I Workshop do Projeto Temático FAPESP – Fruto-refinaria: processos de obtenção, métodos de caracterização e geração de produtos oriundos de resíduos da fruticultura. Apresentação online do trabalho “**Desenvolvimento de um Polímero de Impressão Molecular (MIP) para separação de xilo-oligossacarídeos provenientes de resíduos da fruticultura: Resultados Iniciais**”. Rio Claro - SP, 28 de abril de 2021. Apresentação online.
- II Workshop do Projeto Temático FAPESP – Fruto-refinaria: processos de obtenção, métodos de caracterização e geração de produtos oriundos de resíduos da fruticultura. Apresentação online do trabalho “**Síntese e otimização de um polímero molecularmente impresso com Xilose para geração de produtos com maior valor agregado**”. Rio Claro, 30 de junho de 2022.
- V Workshop INCT-DATREM. Apresentação online do trabalho “**Desenvolvimento de um Polímero de Impressão Molecular (MIP) para separação de Xilose de resíduos sólidos da fruticultura**”. Araraquara - SP, 15 de agosto de 2022.
- VII Semana de Engenharia Química. Apresentação presencial do trabalho “**Utilização de Polímeros Biomiméticos em técnicas de separação em estado sólido: uma alternativa para o reaproveitamento de resíduos da fruticultura**”. Instituto de Química de Araraquara -Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara - SP, 21 de setembro de 2022.
- Webinar online “**Degradable Conjugated Polymers**”, apresentado pela Profa. Dra. Helen Tran (Department of Chemistry, University of Toronto). Evento organizado pelo Programa de Pós-Graduação em Química – Universidade Federal de São Carlos, 29 de julho de 2022.

PRÊMIOS E TÍTULOS

- Melhor trabalho da área de sensores no V Workshop INCT-DATREM.
- Apresentação premiada em 3º lugar na categoria Mestrado e Doutorado na Feira Científica da 7ª Semana da Engenharia Química da Unesp em Araraquara-SP.

ATIVIDADES ACADÊMICAS COMPLEMENTARES

Participação como avaliador: 1ª Fase do XXXIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP no Instituto de Química. 29/10/2021.

Cursos de aperfeiçoamento

- Treinamento nas bases de dados SciFinder, Web of Science e Scopus, 2021.
- Curso online: “Fundamentos de cromatografia líquida para indústria farmacêutica.” Realizado de 06 a 10 de agosto de 2021 com carga horária total de 8 horas e 30 minutos.
- Treinamento online “Inglês Minuto”. Realizado de 29/04/2021 a 15/06/2022 com carga horária total de 120 horas.
- Aulas de conversação em inglês com nativos pela plataforma Cambly. Carga horária total > 600 minutos, 2022.
- Curso de comunicação e escrita científica, ministrado pelo Prof. Dr. Osvaldo Novais de Oliveira Junior nos dias 06, 13 e 20 de outubro de 2022. Carga horária total de 4 h e 30 min.

Dedico esse trabalho à minha família pelo suporte, amor e carinho.
Aos meus amigos pelo exemplo e apoio nos momentos que eu mais precisei.
À Unesp por fornecer um ensino de alta qualidade e gratuito durante toda
minha formação no ensino superior.
Minha gratidão a vocês é imensurável.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por estar sempre comigo, sendo meu guia, meu guarda, minha luz e meu sustento.

Aos meus pais Marlene Tavares e Gilmar Borges (*in memoriam*) que são a minha base! Obrigado por me criarem com amor e me educarem para me tornar um homem honesto e trabalhador.

À minha orientadora Profa. Dra. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor e ao meu coorientador Prof. Dr. Ademar Wong, pela amizade, orientação, dedicação e terem dado todo o suporte que precisei durante essa jornada.

Ao meu irmão Henrique Tavares Borges, por ser a pessoa mais gentil, bondosa e confiável que eu já conheci, além de ser meu melhor amigo.

A todos meus familiares, em especial aos meus tios Daniel Tavares, Marli Tavares da Cruz, Nilson Tavares, José Tavares Neto e aos meus avós Fidelina Bispo Tavares e Jorge Tavares, os quais sempre estiveram presente na minha vida. Sem o amor e cuidado de vocês eu não teria chegado até aqui.

A todos do grupo GEAr e Nanobiomimetic Sensors, em especial, Rafael Rovatti Pupin, Rafael da Fonseca Alves, Caio César Gonçalves Silva, Javier Lobatón, Larissa Prospero e Lucas Silva pelas reflexões, conselhos, companheirismo e acima de tudo amizade.

À Weida Rodrigues Silva que chegou já no final desse período de estudos, mas se tornou uma grande amiga, fez colaborações com o trabalho e sempre me motivou a dar o melhor de mim.

Aos meus orientadores de iniciação científica, Profa. Dra. Ana Maria Pires, Prof. Dr. Sérgio Antônio Marques de Lima e Prof. Dr. Airton Germano Bispo Jr. Obrigado por terem sido minha base na pesquisa científica e também uma fonte de inspiração de valores.

À Profa. Dra. Hideko Yamanaka, Prof. Dra. Maria Valnice Boldrin e ao Prof. Dr. Nelson R. Stradiotto, do GEAr (Grupo de Eletroanalítica de Araraquara), pelas colaborações científicas e ensinamentos.

Ao Eduardo Jara pelas análises de B.E.T. e a Lariel Neres pela realização da simulação computacional.

À Prof. Dra. Kelly Johana Dussán Medina e a doutoranda Sâmilla Gabriella Coelho de Almeida por fornecerem o hidrolisado hemicelulósico de cana-de-açúcar e realizarem as medidas no HPLC em seu laboratório.

À Patrícia Regina de Souza por ter sido uma amiga sempre presente e que já me ajudou na correção gramatical de muitos textos.

Aos meus grandes amigos de graduação Bruno Gois, Gabriela Delli Colli Zocolaro, Gustavo Masson e Leonardo Pecorari pela força e companheirismo.

Aos técnicos de laboratório do Instituto de Química, João Pedro da Silva, Marina Magnani, Alberto Camilo Alécio e Rafael Romano Domenegueti, os quais desempenham um excelente trabalho de suporte aos alunos.

À Débora Marroco Ninin pelo excelente trabalho de revisão das normas de escrita dessa dissertação.

A toda comunidade científica empenhada no desenvolvimento da vacina da Covid-19 e a equipe da saúde envolvida no tratamento das vítimas da pandemia.

À FAPESP pelo auxílio com o projeto temático “Fruto-refinaria: processos de obtenção, métodos de caracterização e geração de produtos oriundos de resíduos da fruticultura”, processo: 17/22401-8.

Ao INCT-DATREM pelas colaborações, processo: 14/50945-4.

A todas as agências de fomento e instituições envolvidas na minha formação superior, incluindo UNESP, CAPES, CNPQ. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance code 001.

"Se o dinheiro for a sua esperança de independência, você jamais a terá. A única segurança verdadeira consiste numa reserva de sabedoria, de experiência e de competência."

(Henry Ford)

Resumo

A agroindústria desempenha um papel de grande importância econômica, porém esse setor produz toneladas de resíduos que precisam de tratamento para evitar problemas ambientais. Nesse sentido, é importante desenvolver métodos de reaproveitamento desses resíduos, a fim de minimizar a contaminação do meio ambiente e fabricar produtos de maior valor agregado. Particularmente, indústrias que geram resíduos lignocelulósicos apresentam potencial para separação de xilose, um açúcar com inúmeras aplicações no campo farmacêutico, alimentar e química fina. Diante disso, o presente estudo traz uma abordagem inédita sobre a síntese por precipitação de um polímero molecularmente impresso (MIP) com xilose, o qual pode ser empregado na extração em fase sólida dispersiva (MIP-DSPE) de resíduos lignocelulósicos agroindustriais. A primeira etapa do trabalho consistiu em determinar as condições de síntese do polímero, avaliando a porcentagem de adsorção do analito e Fator de Impressão (FI) do polímero. O MIP com maior FI (3,34) foi empregado em estudos de adsorção, onde demonstrou rápida cinética de religação a xilose, isotermas de adsorção que se adequam ao modelo de Langmuir e que pode ser reutilizado pelo menos três vezes. Estudos de seletividade mostraram que o MIP desenvolvido é seletivo, mostrando maior capacidade de adsorção de xilose frente a outros açúcares com estruturas semelhantes. Os polímeros foram caracterizados por potencial zeta, espectroscopia no infravermelho, microscopia eletrônica de varredura, microscopia de força atômica, método BET e análise termogravimétrica. A análise de BET indicou o sucesso da impressão molecular, apresentando área superficial de 8.7 m²/g e 69.4 m²/g para NIP e MIP, respectivamente e, volume de poros de 0,03 cm³/g e 0,26 cm³/g para NIP e MIP, respectivamente. Para separação de xilose em amostras reais, foi preparado o hidrolisado hemicelulósico de bagaço de laranja (BL) e de palha com bagaço da cana-de-açúcar (PBC), de acordo com o procedimento padrão “*National Renewable Energy Laboratory – NREL*”. Os polímeros MIP e NIP foram aplicados em DSPE com os hidrolisados BL e PBC, demonstrando maior porcentagem de adsorção de xilose em PBC (%ads^{MIP} = 87,26 ± 0,98 e %ads^{NIP} 66,12 ± 2,21). Por fim, para recuperação da xilose adsorvida aos polímeros, foi feito um procedimento simples de dessorção em água pura, alcançando 78,00 ± 7,65% e 85,23 ± 3,37% da xilose adsorvida no MIP e NIP, respectivamente.

Palavras-chave: xilose; polímero molecularmente impresso; resíduos lignocelulósicos; extração em fase sólida dispersiva.

Abstract

Agribusiness plays a role of great economic importance, but this sector produces tons of waste that need treatment to avoid environmental problems. In this sense, it is important to develop methods for reusing these residues to minimize environmental contamination and manufacture products with greater added value. Particularly, industries that generate lignocellulosic residues have the potential for the separation of xylose, a sugar with numerous applications in the pharmaceutical, food, and fine chemical fields. In view of this, the present study brings an unprecedented approach to the synthesis by precipitation of a molecularly imprinted polymer (MIP) with xylose, which can be used in dispersive solid phase extraction (MIP-DSPE) of agroindustrial lignocellulosic residues. The first stage of the work consisted of determining the best conditions for polymer synthesis, evaluating the percentage of analyte adsorption, and the polymer's Impression Factor (FI). The MIP with the highest FI (3.34) was used in adsorption studies, where it demonstrated fast rebinding kinetics to xylose, adsorption isotherms that fit the Langmuir model and that can be reused at least three times. Selectivity studies showed that the MIP developed is selective, showing a greater adsorption capacity for xylose compared to other sugars with similar structures. The polymers were characterized by Zeta Potential, Infrared Spectroscopy, Scanning Electron Microscopy, Atomic Force Microscopy, BET method, and thermogravimetric analysis. BET analysis indicated the success of molecular printing, showing a surface area of 8.7 m²/g and 69.4 m²/g for NIP and MIP, respectively, and pore volume of 0.03 cm³/g and 0.26 cm³/g for NIP and MIP, respectively. For the separation of xylose in real samples, the hemicellulosic hydrolyzate of orange bagasse (BL) and sugarcane straw and bagasse (PBC) was prepared, according to the standard procedure "National Renewable Energy Laboratory – NREL". MIP and NIP polymers were applied in DSPE with BL and PBC hydrolysates, demonstrating a higher percentage of xylose adsorption on PBC (%ads^{MIP} = 87.26 ± 0.98 and %ads^{NIP} 66.12 ± 2.21). Finally, to recover the xylose adsorbed to the polymers, a simple procedure of desorption in pure water was performed, reaching 78.00 ± 7.65% and 85.23 ± 3.37% of xylose from MIP and NIP, respectively.

Keywords: xylose; molecularly imprinted polymer; lignocellulosic residues dispersive solid phase extraction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Principais componentes e estrutura da parede celular vegetal.	22
Figura 2 - Exemplo de uma estrutura química de xilana da hemicelulose.	23
Figura 3 - Representação do uso de MIP-DSPE para preparação de amostras.	27
Figura 4 - Representação ilustrativa da impressão molecular de xilose usando acrilamida como MM e N,N'-Metilenobisacrilamida como ME.	29
Figura 5 - Procedimento realizado para síntese por precipitação dos polímeros.	34
Figura 6 - Etapas de síntese: a) Reação de polimerização por precipitação sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e controle de temperatura a 60 °C. b) material obtido após filtração a vácuo em funil de Büchner.	35
Figura 7 - Etapas de preparação do bagaço de laranja: a) lavagem com água e etanol a frio; b) lavagem com água e etanol em soxhlet; c) bagaço lavado, moído e peneirado.	39
Figura 8 - Amostras de BL a) hidrolisado após autoclave, b) hidrolisado filtrado.	39
Figura 9 - Reação para conversão de xilose em phloroglucida.	41
Figura 10 - Fotos do procedimento para quantificação de xilose.	42
Figura 11 - Espectros da curva de calibração de xilose em meio aquoso e ajuste linear das absorvâncias em 554 nm.	42
Figura 12 - Espectros da curva de calibração de xilose em ACN e ajuste linear das absorvâncias em 554 nm.	43
Figura 13 - Resultados de DFT para energias de interação entre xilose e diferentes MF em meio aquoso.	44
Figura 14 - Espectros de absorção obtidos das soluções de lavagem do MIP.	45
Figura 15 - Porcentagem de adsorção do analito em função do solvente. Ensaio realizado utilizando 5,0 mg de polímero e 1,5 mL de solução 20,0 mg L ⁻¹ de xilose.	47
Figura 16 - Espectros vibracionais de FTIR obtidos do MIP, NIP e MBAm.	53
Figura 17 - Estrutura do MF e ME usados na síntese do MIP e NIP.	53
Figura 18 - Dados de potencial Zeta do MIP em função do pH.	55
Figura 19 - Micrografias dos polímeros otimizados: a) e c) MIP na escala de 1 µm e 100 nm, respectivamente. b) e d) NIP na escala de 1 µm e 100 nm, respectivamente.	56

Figura 20 - MFA dos polímeros otimizados: a) e b) imagens bidimensionais do MIP e NIP respectivamente, c) e d) imagens tridimensionais do MIP e NIP respectivamente.	57
Figura 21 - Diagrama de rugosidade de partículas: a) MIP, b) NIP.	58
Figura 22 - Classificação das isotermas de adsorção de N ₂	59
Figura 23 - Isotermas de adsorção de N ₂ do NIP otimizado.	61
Figura 24 - Isotermas de adsorção de N ₂ do MIP otimizado	61
Figura 25 - Curvas TG do MIP e NIP otimizados.	62
Figura 26 - Capacidade de adsorção Q do MIP e NIP em função do tempo.	63
Figura 27 - Ajuste linear referente ao modelo cinético de pseudo-segunda ordem.	65
Figura 28 - Isotermas de adsorção de 5 mg de MIP e NIP com solução de xilose em ACN variando a concentração entre 5 e 100 mg L ⁻¹	66
Figura 29 - Ajuste linear do modelo de Langmuir para MIP e NIP.	67
Figura 30 - Estrutura molecular da xilose e de possíveis interferentes utilizados nos testes de seletividade.	69
Figura 31 - Capacidade de adsorção do MIP e NIP para diferentes sacarídeos.	69
Figura 32 - Demonstração da propriedade aditiva das absorvâncias na análise de xilose e glicose com phloroglucinol.	71
Figura 33 - Espectros de absorvância gerados no método colorimétrico com phloroglucinol para determinação de xilose, glicose, galactose e manose.	72
Figura 34 - Capacidade de adsorção do MIP e NIP para cada sacarídeo em uma mistura de dois açúcares.	74
Figura 35 - Espectros de absorvância obtidos dos ensaios de adsorção do MIP e NIP otimizados com amostra de BL 1:10 v/v, m _{polímero} = 10,0 mg, V _{amostra} = 1,5 mL.	77
Figura 36 - Espectros de absorvância obtidos dos ensaios de adsorção do MIP e NIP otimizados com amostra de BL 1:20 v/v, m _{polímero} = 10,0 mg, V _{amostra} = 1,5 mL.	78
Figura 37 - Soluções do hidrolisado hemicelulósico de PBC empregado no ensaio de adsorção com MIP e NIP otimizados.	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição empregada na primeira síntese dos polímeros.	45
Tabela 2 - Resultados dos ensaios utilizando 5,0 mg de polímero e 1,5 mL de solução aquosa de xilose.	46
Tabela 3 - Resultados dos ensaios utilizando 5,0 mg de polímero e 1,5 ml de solução de xilose em Tampão BR ajustado nos pH 3, 7 e 11.	46
Tabela 4 - Fatores de adsorção dos ensaios com 5,0 mg de polímero e 1,5 mL de solução 20,0 mg L ⁻¹ de xilose em ACN.	49
Tabela 5 - Composição empregada na síntese do MIP2 ou NIP2, MIP3 ou NIP3, MIP4 ou NIP4.	49
Tabela 6 - Fatores de adsorção obtidos dos ensaios com 5,0 mg dos novos materiais e 1,5 mL de solução 20,0 mg L ⁻¹ de xilose em ACN.	50
Tabela 7 - Composição empregada na síntese otimizada dos polímeros.....	51
Tabela 8 - Fatores de adsorção obtidos dos ensaios com 5,0 mg dos polímeros da síntese otimizada e 1,5 mL de solução 20,0 mg L ⁻¹ de Xilose em ACN.	52
Tabela 9 - Parâmetros obtidos do ajuste linear para o modelo cinético de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.	64
Tabela 10 - Constantes calculadas pelo modelo cinético de pseudo-segunda ordem.	65
Tabela 11 - Modelos teóricos de adsorção de Langmuir e Freundlich.....	67
Tabela 12 - Fatores de separação e impressão em função da concentração de analito.	68
Tabela 13 - Constante de distribuição (K _d) e constantes de seletividade (K e K') para cada interferente.	70
Tabela 14 - Dados obtidos das curvas de calibração de cada açúcar individual.	72
Tabela 15 - Dados de ensaios de adsorção do MIP reutilizado.	75
Tabela 16 - Valores médios de concentração obtidos pelos dois métodos de quantificação empregados nas mesmas soluções. ND = Não determinado.	75
Tabela 17 - Análise do hidrolisado concentrado de BL.....	77
Tabela 18 - Análise cromatográfica do hidrolisado hemicelulósico de BL empregado nos ensaios de adsorção com MIP e NIP: $m_{\text{polímero}} = 20,0 \text{ mg}$, $V_{\text{amostra}} = 3,0 \text{ mL}$. ND = Não determinado.....	78

Tabela 19 - Análise do hidrolisado concentrado de PBC.....	79
Tabela 20 - Análise colorimétrica do hidrolisado hemicelulósico de PBC empregado nos ensaios de adsorção com MIP e NIP: $m_{\text{polímero}} = 10,0 \text{ mg}$, $V_{\text{amostra}} = 1,5 \text{ mL}$. <i>ND = Não determinado</i>	80
Tabela 21 - Análise cromatográfica do hidrolisado hemicelulósico de PBC empregado nos ensaios de adsorção com MIP e NIP: $m_{\text{polímero}} = 20,0 \text{ mg}$, $V_{\text{amostra}} = 3,0 \text{ mL}$. <i>ND = Não determinado</i>	80
Tabela 22 - Porcentagem de adsorção de xilose obtida pela análise cromatográfica e colorimétrica.....	81
Tabela 23 - Determinação cromatográfica dos açúcares nos ensaios de recuperação em água pura.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\%ads^{MIP}$	Porcentagem de adsorção do analito no MIP
$\%ads^{NIP}$	Porcentagem de adsorção do analito no NIP
$\%rec^{MIP}$	Porcentagem de recuperação de xilose adsorvida no MIP
$\%rec^{NIP}$	Porcentagem de recuperação de xilose adsorvida no NIP
ACN	Acetonitrila
ACR	Acrilamida
AIBN	Azobisisobutironitrila
BET	Brunauer-Bmmett-Teller
BL	Bagaço de laranja
C_e^{MIP}	Concentração de equilíbrio medida no ensaio com MIP ($mg\ L^{-1}$)
C_e^{NIP}	Concentração de equilíbrio medida no ensaio com MIP ($mg\ L^{-1}$)
CLAE-IR	Cromatografia líquida de alta eficiência com índice de refração
$ \bar{d} $	Valor absoluto da média das diferenças dos pontos de concentração
DFT	Teoria do funcional da densidade
DP^{ACN}	Desvio padrão da absorbância do branco em acetonitrila
$DP^{Água}$	Desvio padrão da absorbância do branco em água
DSPE	Extração em fase sólida dispersiva
EGDMA	Etilenoglicol dimetacrilato
FI	Fator de impressão molecular
$K_d(MIP)$	Coeficiente de distribuição do MIP
$K_d(NIP)$	Coeficiente de distribuição do NIP
KPS	Persulfato de potássio
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MAA	Ácido metacrílico
MBA _m	N, N'–metilenobisacrilamida
ME	Monômero estrutural
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MF	Monômero funcional
MFA	Microscopia de força atômica
MIP	Polímero molecularmente impresso

MM	Molécula molde
$m_{\text{polímero}}$	Massa de polímero (mg)
ND	Não determinado
NIP	Polímero Não Impresso
n	Número de análises realizadas
PBC	Palha e bagaço de cana-de-açúcar
Q	Capacidade de adsorção fora do estado de equilíbrio (mg g^{-1})
Q_e	Capacidade de adsorção no estado de equilíbrio (mg g^{-1})
Q_e^{max}	Capacidade máxima de adsorção no estado de equilíbrio (mg g^{-1})
S_d	Desvio padrão das diferenças dos pontos de concentração
TGA	Análise termogravimétrica
V_{amostra}	Volume de amostra
XOS	Xilo-oligossacarídeos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	Biomassa da laranja e cana-de-açúcar	24
1.2	Separação e quantificação de xilose	26
1.3	Polímeros Molecularmente Impressos (MIPs)	28
2	OBJETIVOS	31
2.1	Objetivo Geral	31
2.2	Objetivos Específicos	31
3	MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1	Reagentes e soluções	32
3.2	Equipamentos	32
3.3	Simulação Computacional	33
3.4	Procedimentos Experimentais	33
3.4.1	Quantificação de xilose com phloroglucinol	33
3.4.2	Determinação das melhores condições de síntese dos polímeros	33
3.4.3	Avaliação dos MIPs em ensaios de adsorção DSPE	36
3.5	Caracterizações físico-químicas	36
3.5.1	Espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	36
3.5.2	Potencial Zeta	36
3.5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	36
3.5.4	Microscopia de Força Atômica (MFA)	37
3.5.5	Método BET (Brunauer-Emmett-Teller)	37
3.5.6	Análise Termogravimétrica (TGA)	37
3.6	Estudo cinético de adsorção	37
3.7	Isotermas de adsorção	37
3.8	Estudo da seletividade	37
3.9	Avaliação de interferentes	38

3.10	Reutilização do MIP	38
3.11	Aplicação em amostras reais	38
3.11.1	Bagaço de laranja (BL)	38
3.11.2	Palha e bagaço de cana-de-açúcar (PBC).....	40
3.11.3	Análise de amostras reais por CLAE-IR.....	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	41
4.1	Determinação de xilose com phloroglucinol	41
4.2	Determinação das melhores condições de síntese dos polímeros	44
4.2.1	Procedimento inicial	44
4.2.2	Procedimentos realizados para otimizar a síntese	49
4.2.3	Síntese otimizada.....	51
4.3	Caracterização dos polímeros otimizados	52
4.3.1	Espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .	52
4.3.2	Potencial Zetta	54
4.3.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	55
4.3.4	Microscopia de Força Atômica (MFA).....	57
4.3.5	Método BET (Brunauer-Emmett-Teller).....	58
4.3.6	Análise Termogravimétrica (TGA).....	62
4.4	Estudo Cinético	63
4.5	Isotermas de adsorção	66
4.6	Estudo de seletividade.....	68
4.7	Avaliação de interferentes	71
4.8	Reutilização do MIP	75
4.9	Aplicação em amostras reais	75
4.9.1	Análise comparativa de xilose com phloroglucinol e CLAE-IR	75
4.9.2	Bagaço de laranja (BL)	76
4.9.3	Palha e bagaço de cana-de-açúcar (PBC).....	79

5	CONCLUSÃO.....	83
6	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	84
	REFERÊNCIAS.....	85

1 INTRODUÇÃO

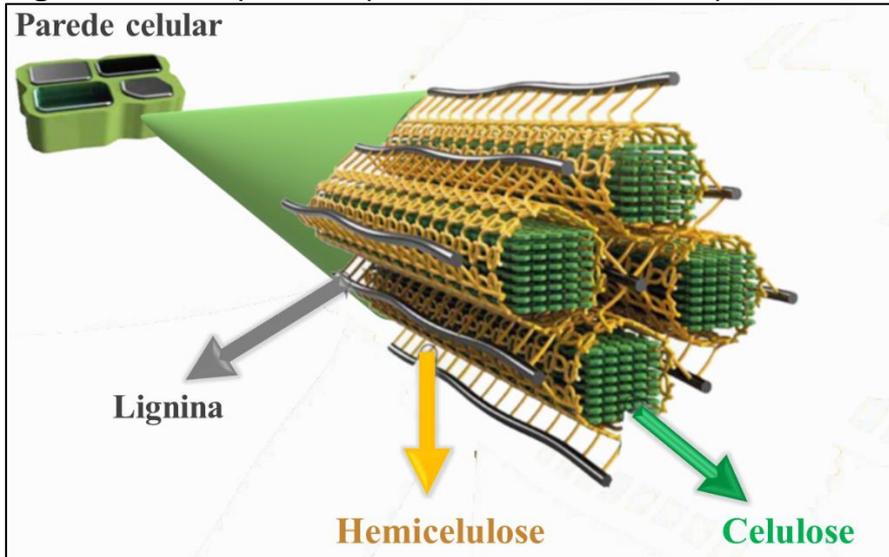
O Brasil é um país com vasta área territorial disponível para agricultura, rico em recursos hídricos e clima propício para o cultivo de várias espécies de plantas, o que favorece a produção de alimentos pelo setor agroindustrial. Com o crescimento populacional associado a práticas mais consumistas, o aumento na demanda de vários produtos agrícolas tem posicionado esse setor como um dos mais importantes para a economia do país. Em especial, o Brasil se destaca como maior produtor mundial de laranja, cana-de-açúcar e alguns derivados desses insumos (AZEVEDO *et al.*, 2022; NEVES *et al.*, 2020).

Apesar da contribuição positiva à economia brasileira, o aumento de resíduos gerados por práticas agrícolas é uma consequência que exige atenção para o desenvolvimento de técnicas mais “amigáveis” ambientalmente. Por exemplo, as indústrias de alimentos voltadas para o processamento de laranja e cana-de-açúcar, geram toneladas de subprodutos agroindustriais, como cascas, folhas, caldo, sementes, polpa, bagaço e palha. Esses subprodutos se não forem tratados adequadamente podem causar sérios problemas de poluição, como a liberação de gases do efeito estufa e conseqüentemente mudanças climáticas (AZEVEDO *et al.*, 2022; SADH; DUHAN; DUHAN, 2018).

As técnicas de manejo tradicionais como a produção de ração animal e compostagem, frequentemente não são atrativas do ponto de vista econômico, por isso, tratamentos alternativos voltados para a geração de energia ou na fabricação de produtos com maior valor agregado estão sendo cada vez mais requisitados. Nesse sentido, novas estratégias têm sido investigadas para reinserir resíduos em outros processos produtivos, promovendo uma espécie de economia circular para a geração de novos materiais (EMILIA; SANTOS; MAGRINI, 2018; NEGRO *et al.*, 2017).

A composição dos substratos residuais depende da espécie de planta ou fruta processada, forma de processamento e condições de cultivo. Apesar das variáveis, sabe-se que a parede celular vegetal é formada majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina (SILVA *et al.*, 2020). Uma representação da organização desses componentes na parede celular pode ser visualizada na **Figura 1**.

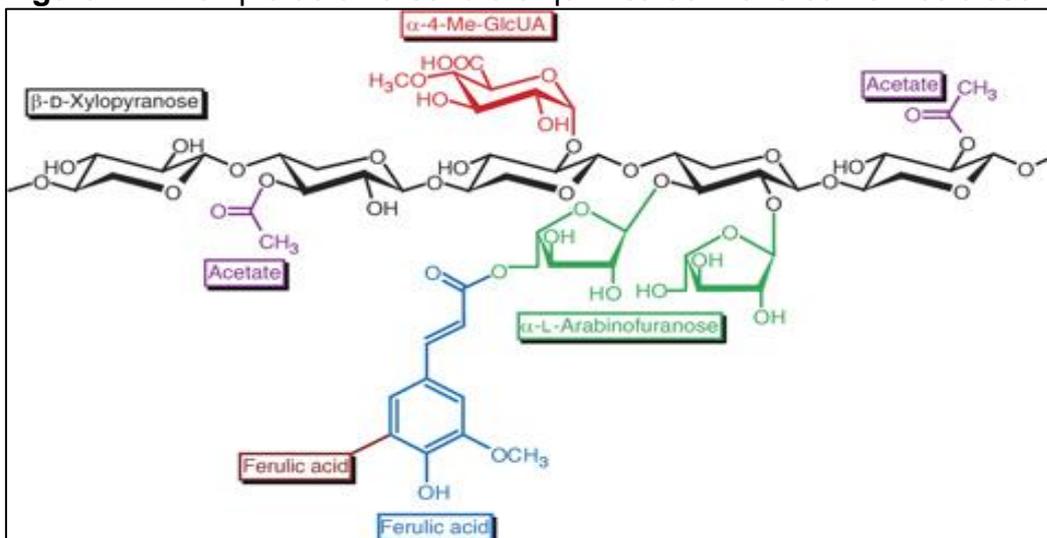
Figura 1 - Principais componentes e estrutura da parede celular vegetal.



Fonte: Adaptado de Brethauer; Shahab; Studer (2020).

A hemicelulose é um biopolímero amorfo, constituído por monômeros de pentoses (D-xilose e D-arabinose), hexoses (D-manose, D-glicose e D-galactose) e ácidos orgânicos. Esse polissacarídeo apresenta diversas aplicações biotecnológicas atraentes, como a confecção de biofilmes, estabilizante de emulsões, agente gelificante e aditivo para fabricação de papel. As hemiceluloses são frequentemente classificadas de acordo com o açúcar em maior quantidade na cadeia principal. Assim, uma das formas mais comuns de hemicelulose é a xilana, formada principalmente por unidades de D-xilose ligadas por pontes glicosídicas β -(1→4) na cadeia principal. Quando hidrolisadas, as xilanas (**Figura 2**) originam a D-xilose e xilo-oligossacarídeos (XOS), os quais podem ser utilizados na obtenção de produtos com alto valor agregado (MACHMUDAH; KANDA; GOTO, 2017; MENDES *et al.*, 2017; QASEEM; SHAHEEN; WU, 2021).

Figura 2 - Exemplo de uma estrutura química de xilana da hemicelulose.



Fonte: Dodd; Cann, 2009.

Os sacarídeos, também conhecidos como carboidratos, são compostos orgânicos de grande importância devido ao seu papel como fontes de energia, materiais estruturais e funções biológicas. Particularmente, o principal monossacarídeo da xilana, denominado xilose, possui versatilidade de aplicação em diversas áreas industriais, incluindo o campo farmacêutico, alimentar e química fina (DA SILVA *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2022). A xilose é um açúcar com cinco átomos de carbono, cuja absorção depende somente da integridade da parede intestinal, por isso esse açúcar tem sido utilizado no diagnóstico de síndromes de má absorção intestinal. Essa pentose também pode ser empregada na produção de xilitol, um adoçante natural tolerado por diabéticos, bem como na produção do furfuraldeído, um precursor de inúmeros compostos de alto valor agregado. Além disso, alguns microrganismos podem converter a xilose em outros produtos importantes, incluindo etanol, butanol e polihidroxicanoatos (MENEZES, 2018; MOREIRA; BUFFON; STRADIOTTO, 2020; QASEEM; SHAHEEN; WU, 2021).

Dado a importância do aproveitamento de xilose e dos resíduos gerados pela agroindústria, esse estudo propõe a separação de xilose do bagaço da laranja e cana-de-açúcar, aplicando a hidrólise da biomassa e empregando um Polímero Molecularmente Impresso na Extração em Fase Sólida Dispersiva (MIP-DSPE) do hidrolisado hemicelulósico.

1.1 Biomassa da laranja e cana-de-açúcar

A hemicelulose é um polímero rico em xilose em muitas espécies de plantas, o qual se encontra associado a celulose e lignina na parede celular de células vegetais. Por tanto, a primeira etapa para obtenção de xilose deve ser a separação da hemicelulose dos outros componentes da célula vegetal. Existem diferentes meios para se realizar esse processo, sendo o pré-tratamento com ácido diluído um dos mais eficazes e economicamente viáveis. Isso porque o caráter amorfo e baixo grau de polimerização da hemicelulose em comparação com a celulose e lignina, oferecem maior susceptibilidade à hidrólise ácida. No que se refere a obtenção de monossacarídeos, estudos indicam que o pré-tratamento da biomassa com H₂SO₄ diluído exibe alta eficiência de extração, resultando em um hidrolisado hemicelulósico com potencial para geração de substâncias químicas de alto valor agregado (ALMEIDA *et al.*, 2022; QASEEM; SHAHEEN; WU, 2021).

A origem de biomassa vegetal (gramínea, lenhosa, leguminosa, resíduos agrícolas) e o tecido tratado (casca, semente, raiz, folha, caule), podem divergir muito no conteúdo dos polímeros presentes na parede celular. De acordo com Mantovan *et al.*, 2020, o bagaço da laranja é composto essencialmente por fibras estruturais em conjunto com pectinas e açúcares solúveis fermentáveis. Embora a composição depende do tipo e do cultivo da laranja, geralmente é constituída por proteínas (4-8%), lipídios (0,6-4%) e carboidratos (80-87%), dos quais 22-46% são fibras insolúveis e 15-25% são fibras solúveis. O teor de fibra insolúvel compreende celulose, hemicelulose e lignina.

Souza *et al.* (2018), apresentam um estudo sobre a caracterização do bagaço da laranja, onde aproximadamente 57% da massa total das amostras corresponde a proteínas e carboidratos e 30% de pectina. Nesse trabalho não foi possível determinar a quantidade de celulose e hemicelulose, porém foi estimado a porcentagem de monossacarídeos individuais, a saber: 1,5% de ramnose, 5% de arabinose, 1,5% de xilose, 3,6% de manose, 4,3% de galactose e 21,9% de glicose. Rivas *et al.* (2008) realizou um tratamento de auto hidrólise em cascas de laranja e obteve 9,21% de celulose, 10,5% de hemicelulose, 0,84% de lignina e 42,3% de pectina, considerando a porcentagem de massa seca da biomassa. Já no bagaço da laranja, Silva *et al.* (2020) alcançaram 5,37% de celulose, 13,62% de hemicelulose, 6,16% de lignina e 7,21% pectina, enquanto Mantovan *et al.*, (2020) reportaram ter produzido 12,4% de celulose, 7,5% de hemicelulose, 8,9% de lignina e 12,3% de pectina.

Em relação a cana-de-açúcar, essa gramínea se destaca como uma das fontes de biomassa mais utilizada para a produção de biocombustíveis. Só no Brasil, as usinas de açúcar e álcool processam aproximadamente 600 milhões de toneladas de cana-de-açúcar por ano, gerando aproximadamente 80 milhões de toneladas de bagaço de cana. Diante disso, a comunidade científica não tem poupado esforços para desenvolver métodos mais eficientes no reaproveitamento dos resíduos gerados pelo setor sucroenergético (MARCONDES; MILAGRES; ARANTES, 2020).

Embora a maior parte do bagaço da cana-de-açúcar seja destinada para a geração de energia ou fertilização da terra, essa fibra vegetal em conjunto com a palha pode ser utilizada como matéria prima para manufatura de bioprodutos. Estima-se que mais de 80% da hemicelulose advinda da cana-de-açúcar é formada por xilana, por isso, esse polímero é empregado principalmente na produção de xilo-oligossacarídeos e xilose. Nessa esfera, quando se propõe a obtenção de xilo-oligossacarídeos, o tratamento da biomassa envolve mais de uma etapa, sendo comumente a primeira etapa de auto hidrólise ou hidrólise básica e, posteriormente, etapas de hidrólise enzimática com endoxilanasas. Já para geração majoritária de monômeros de xilose, o emprego da hidrólise ácida seguida de auto hidrólise é mais comum (ALMEIDA *et al.*, 2022; BRIENZO; CARVALHO, 2010; MARCONDES; MILAGRES; ARANTES, 2020).

Nos estudos desenvolvidos por Carvalho; Queiroz; Colodette (2016) e Almeida *et al.* (2022), a composição de massa seca desses resíduos (palha e bagaço), giraram em torno de 40% de celulose, 30% de hemicelulose, 20 % de lignina e o restante de cinzas e extrativos. Almeida *et al.* (2022) analisaram a fração hemicelulósica, alcançando 42 g L⁻¹ de açúcares totais, em uma relação glicose:xilose:arabinose de 1:11:2. Em Marcondes; Milagres; Arantes (2020), a recuperação de xilose do bagaço de cana hidrolisado chegou a 70% em condições otimizadas, apresentando uma relação glicose:xilose:arabnose de 1:10:1. A caracterização do hidrolisado hemicelulósico nos trabalhos de Hernández-pérez *et al.* (2020) e Brienzo; Carvalho (2010), também apresentaram uma concentração de xilose bem maior que os demais açúcares presentes na amostra, demonstrando a relevância de aproveitamento dessa pentose nesse tipo de biomassa.

A hemicelulose apresenta uma estrutura complexa e após hidrolisada, produz uma mistura variável, a qual depende de fatores da biomassa e forma de tratamento.

Logo, uma etapa fundamental para o aproveitamento da porção sacarídea é a separação dos açúcares de interesse dos demais extrativos.

1.2 Separação e quantificação de xilose

Uma das primeiras patentes sobre a separação de xilose proveniente da hidrólise ácida de biomassa vegetal, foi publicada por Jaffe; Szkrybalo e Weinert (1974). Nessa invenção, a primeira etapa do procedimento consiste em separar a lignina e celulose insolúveis no hidrolisado por filtração. Em seguida, os autores propuseram passar a solução por uma resina de troca iônica e posteriormente cristalizar a xilose em metanol resfriado a -10 °C. Duas décadas depois, Fields e Wilson (1994) publicaram outra patente, onde após a etapa de filtração para separação dos compostos insolúveis, a fração hemicelulósica pode ser tratada com diferentes tipos de materiais adsorventes, como carvão ativado e polímeros funcionalizados com grupos amina. Posteriormente, o meio contendo xilose passa por etapas de concentração evaporando-se o solvente e, assim, a xilose pode ser cristalizada em etanol a temperatura ambiente.

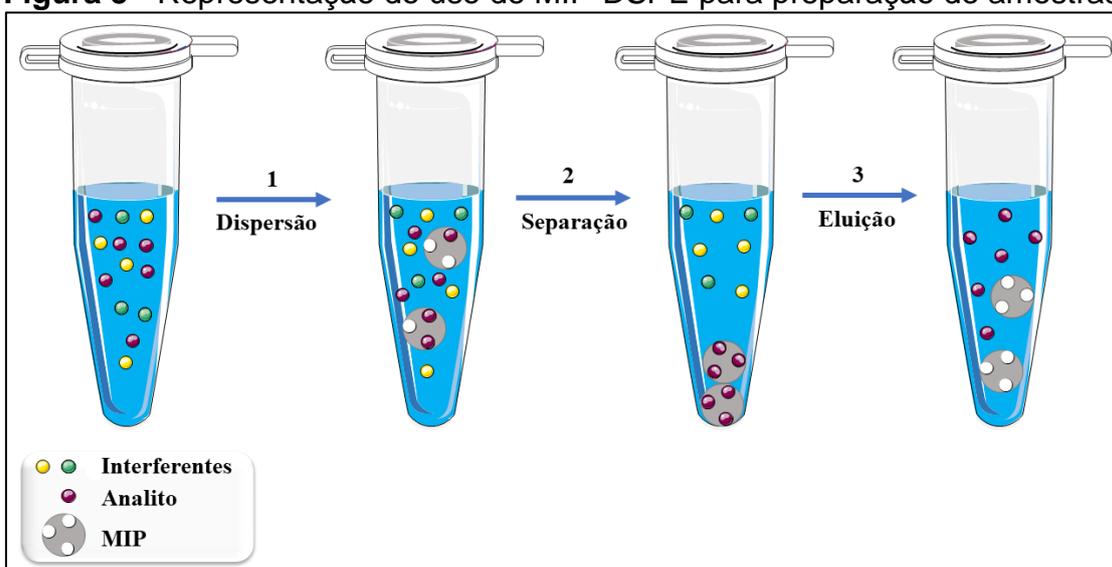
Atualmente, existem diversos processos de purificação de açúcares que envolvem etapas de extração por solvente, extração em fase sólida, hidrólise enzimática, filtração por membranas e técnicas cromatográficas. No entanto, devido à semelhança das propriedades físico-químicas dos monossacarídeos, a cromatografia ainda é uma dos métodos mais importantes de separação dessas moléculas (FAISAL; DIANA; RAZAK, 2021; MAH et al., 2019; OKUTUCU; ÖNAL, 2011).

Apesar da cromatografia permitir alto grau de separação e purificação de monossacarídeos, essa técnica requer mais recursos e em alguns casos mais tempo para análise em comparação com as demais mencionadas acima. Além disso, muitas vezes devido à complexidade e baixas concentrações de analito na amostra *in natura*, normalmente se faz necessário um pré-tratamento da mesma antes de sua injeção em um sistema cromatográfico. Desse modo, nos últimos anos muitos estudos foram realizados visando esclarecer o comportamento de adsorção de monossacarídeos em resinas, a fim de se determinar o maior fator de separação que pode ser alcançado em cada material. Porém, menos atenção foi dada ao desenvolvimento de materiais específicos para separação da xilose de glicose (FAISAL; DIANA; RAZAK, 2016; MAH et al., 2019; NAGY; PENG; POHL, 2017).

Em amostras ambientais, o pré-tratamento para análises em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), pode ser realizado por Extração em Fase Sólida Dispersiva (DSPE), um método versátil que é destinado à limpeza de extratos, desenvolvido por Anastassiades e Lehotay (2003). A DSPE é uma metodologia simples, onde um sorvente é homogeneizado com a amostra e em seguida separado da solução para análise do adsorvato. O sorvente pode ser seletivo para adsorção de um analito específico e, assim, os demais componentes da amostra ficam em solução, ou ainda, o sorvente pode reter apenas os interferentes da amostra, deixando apenas a molécula de interesse em solução. Quando o analito fica retido seletivamente no sorvente, o mesmo pode ser recuperado livre de impurezas com um solvente adequado capaz de extraí-lo do sorvente (JAYASINGHE; MOREDA-PIÑEIRO, 2021; LU *et al.*, 2019; PANJAN *et al.*, 2018).

Sabendo disso, torna-se notório a necessidade de obter avanços no desenvolvimento de sorventes seletivos para o reconhecimento de xilose, de modo que possam ser empregados em técnicas de separação e pré-concentração como a DSPE. Nesse cenário, uma classe promissora de sorventes que se estende a aplicação em técnicas de preparação de amostras com diferentes espécies químicas, têm sido investigadas baseando-se em Polímero Molecularmente Impresso ou MIP (do inglês *Molecularly Imprinted Polymer*). Uma representação de MIP em DSPE (MIP-DSPE) é elucidada na **Figura 3**.

Figura 3 - Representação do uso de MIP-DSPE para preparação de amostras.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

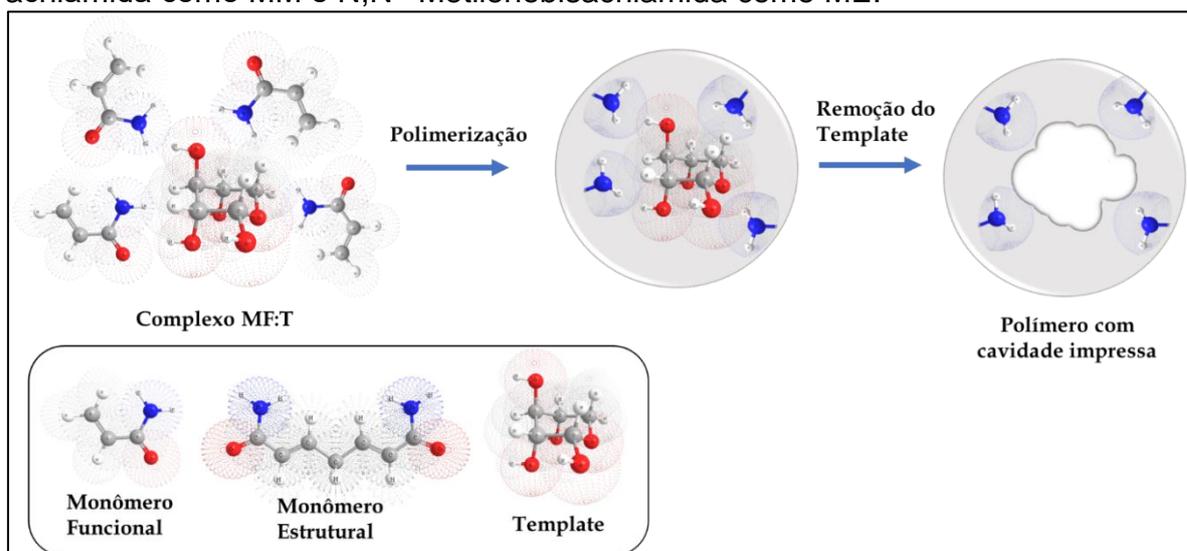
1.3 Polímeros Molecularmente Impressos (MIPs)

Um dos primeiros registros encontrados na área de impressão molecular foi publicado por Polyakov (1931), onde certos solventes de secagem foram observados para criar uma impressão na rede de sílica gel. Na sequência, Pauling (1940), propôs que a produção de anticorpos nas células do corpo ocorre na presença de um antígeno, o qual atua como molde para produzir a forma do anticorpo. Posteriormente, esse fenômeno foi estudado mais a fundo e foram introduzidas novas rotas sintéticas que originaram os polímeros de impressão com seletividade comparável à dos anticorpos naturais (NDUNDA, 2020).

No período atual, técnicas promissoras de extração em fase sólida e de separação para diferentes espécies químicas, tais como a cromatografia, têm sido investigadas baseando-se na estratégia de reconhecimento molecular de processos biológicos, análogo a interação antígeno-anticorpo ou enzima-substrato. Tais abordagens podem ser empregadas através dos MIPs, onde estes materiais atuam como receptores para um analito específico. Devido a essa semelhança no mecanismo de reconhecimento molecular como o que ocorre nos sistemas biológicos dos organismos vivos, esses polímeros são considerados biomiméticos (AZIZI; BOTTARO, 2020; NDUNDA, 2020; PANJAN *et al.*, 2018).

Assim, o conceito de impressão molecular surgiu graças a utilização de um analito como molécula molde (MM) para delinear cavidades na cadeia polimérica (MIP). Para tal, inicialmente a MM interage com monômeros funcionais (MF) formando uma espécie de complexo MM:MF e, subsequentemente, adiciona-se o monômero estrutural (ME) para polimerizar ao redor desse conjunto, resultando em uma configuração complementar a MM no respectivo polímero. A polimerização é iniciada por um iniciador radicalar (IR) que pode ser ativo fotoquimicamente ou por aquecimento. Após a polimerização, a MM também conhecida como “template” é removida da matriz polimérica por meio de solvente, ou evaporação (quando o template é volátil), deixando cavidades que servem como sítios de ligação complementares com forma e tamanho do analito, capazes de reter seletivamente a molécula molde presente numa amostra complexa (AZIZI; BOTTARO, 2020; NDUNDA, 2020; REBELO *et al.* 2021). Uma esquematização desse processo é ilustrada na **Figura 4**.

Figura 4 - Representação ilustrativa da impressão molecular de xilose usando acrilamida como MM e N,N'-Metilenobisacrilamida como ME.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Usualmente a síntese de MIP é acompanhada pela síntese de um polímero controle denominado NIP (*Non Imprinted Polymer*), o qual é produzido nas mesmas condições do MIP, mas sem a presença da molécula molde. O NIP é utilizado para avaliar o sucesso da impressão molecular, comparando suas propriedades físico-químicas com as do MIP. Logo, espera-se encontrar algumas diferenças características no MIP em decorrência da impressão molecular, como por exemplo maior capacidade adsortiva, maior seletividade e maior área superficial das partículas. Além disso, os estudos com o NIP possibilitam o cálculo de fatores importantes para análise do MIP, como o Fator de Impressão e Seletividade (AZIZI; BOTTARO, 2020; NDUNDA, 2020).

As abordagens de impressão molecular são classificadas de acordo com o tipo de interação que o monômero funcional tem com o analito, podendo ocorrer através de ligações covalentes ou não covalentes. Na impressão covalente, são gerados polímeros com distribuição homogênea de sítios de ligação com alta seletividade. Apesar disso, essa abordagem não é amplamente aplicada devido ao lento processo de religação do analito aos polímeros, complexidade da síntese, limitação a certos grupos funcionais, além de exigir procedimentos mais rigorosos para a remoção do analito. Já na abordagem não covalente, a interação do monômero funcional com o analito pode ocorrer por meio de ligações de hidrogênio, empilhamento π - π , ou forças eletrostáticas, a depender dos grupos funcionais presentes. Nesses materiais, os sítios de ligação normalmente são distribuídos heterogeneamente e com regiões de

ligação não específica, decorrentes do excesso de monômero funcional necessário para estabilizar o complexo template:monômero funcional (NDUNDA, 2020; OKUTUCU; ÖNAL; TELEFONCU, 2009; REBELO *et al.*, 2021).

Existem vários fatores que podem ser investigados para melhorar a impressão molecular e a seletividade de MIPs, incluindo o solvente porogênico, o monômero funcional, o monômero estrutural e a razão entre eles. Por essa razão, diferentes formulações podem ser elaboradas e avaliadas através de experimentos de religação com o analito para encontrar a melhor composição do polímero. No entanto, a otimização do processo de síntese para obtenção de um MIP seletivo, muitas vezes é uma tarefa trabalhosa e demorada. Dado a circunstância, para evitar extensos procedimentos de tentativa e erro, a simulação computacional pode ser uma ferramenta útil para prever e analisar interações moleculares no processo de impressão (AZIZI; BOTTARO, 2020; REBELO *et al.*, 2021).

A síntese de MIPs dispõe de diferentes métodos de polimerização, onde são englobadas estratégias que variam de acordo com as propriedades da molécula molde ou do tipo de aplicação do polímero. Dentre eles, a polimerização em “*bulk*” é o método mais tradicional e simples, porém produz um material aglomerado e rígido que necessita de moagem, danificando as cavidades impressas e gerando partículas irregulares. Assim, a polimerização por precipitação é uma alternativa de síntese que forma partículas esféricas e sem a necessidade de moagem, as quais são mais adequadas para aplicações analíticas como técnicas de separação. Nesse método, a reação polimérica ocorre em um volume maior de solução que na polimerização em “*bulk*”, na qual o polímero é insolúvel e precipita. A proposta é livre de tensoativos e permite controlar o tamanho das partículas, mas sua forma permanece irregular (AZIZI; BOTTARO, 2020; REBELO *et al.*, 2021).

Os estudos relacionados a esses polímeros vêm aumentando significativamente nos últimos anos, pois eles demonstram alta capacidade de reconhecimento seletivo de diversas moléculas e uma ampla variedade de aplicação em diferentes amostras. Além do mais, são capazes de serem sintetizados em uma diversidade de classes (partículas sólidas, core@shell, filmes, entre outros). A rapidez e facilidade na síntese, junto com o baixo custo, tornam estes materiais mais vantajosos que seus análogos biológicos, além de mais resistentes a ambientes adversos, como: ácidos, alcalinos, alta pressão e temperatura. Todas estas características evidenciam a potencialidade dos MIPs, e justificam o avanço da

popularidade nas diversas áreas do conhecimento (REBELO *et al.*, 2021; TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral.

Desenvolvimento de um MIP seletivo para xilose, visando a purificação de xilose através de Separação em Fase Sólida Dispersiva (DSPE).

2.2 Objetivos Específicos

- Otimizar as condições de síntese do MIP utilizando reagentes menos tóxicos ao meio ambiente em relação a estudos similares;
- Estabelecer as melhores condições de adsorção de xilose ao MIP;
- Obter informações sobre os parâmetros de adsorção do MIP como: Fl , $\%ads$, Q_e , Q_{max} , isoterma e cinética;
- Investigar a eficiência, seletividade e interferentes do MIP;
- Avaliar as características físico-químicas dos polímeros otimizados;
- Avaliar as condições de hidrólise da hemicelulose de resíduos lignocelulósicos usando ácido concentrado e ácido diluído;
- Aplicar o MIP em DSPE no extrativo hemicelulósico de amostras reais;
- Investigar o desempenho do MIP como sorvente para separação de xilose.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de padrão analítico ou padrão HPLC. Os reagentes utilizados para as diferentes condições de síntese do MIP foram D-xilose, ácido metacrílico (MAA), acrilamida (ACR), *N,N'*-Metilenobisacrilamida (MBAm), etilenoglicol dimetacrilato (EGDMA), persulfato de potássio (KPS) e Azobisisobutironitrila (AIBN), todos da marca Sigma-Aldrich. Para estudos de interferentes foram usados L-rhamnose, L-arabinose, D-glucose, D-galactose, D-manose e sacarose também da Sigma-Aldrich. Os solventes utilizados em diferentes etapas de estudo foram acetonitrila (ACN), ácido acético, ácido clorídrico, etanol, metanol e dimetil sulfóxido adquiridos da marca Synth. Para a quantificação de xilose pelo método espectrofométrico foi utilizado phloroglucinol (Sigma-Aldrich).

3.2 Equipamentos

- O controle da temperatura de síntese dos polímeros e as lavagens dos mesmos em sistema sohxlet foram realizados com auxílio de Banho inox ultratermostatizado digital da marca SOLAB Científica (SL-152I), temperatura de -10 °C a 100 °C, resolução +/- 0,1 °C e precisão até 0,5 °C, resistência U de 1.200 watts, 220 V.
- A lavagem dos polímeros também exigiu a utilização de mantas aquecedoras FISATOM 125 ml Modelo 12E, capacidade de 125 ml - 80W, 220 V.
- A separação do polímero da solução nos ensaios adsorção foram feitas em minicentrífuga para Microtubos Fisher Scientific - Max. Speed: 6000 rpm; 2,000 x g, 100-240V.
- As etapas de filtração com grandes quantidades de amostras foram realizadas em funil de Büchner acoplado ao kitassato e bomba de vácuo Primatec modelo 121 Tipo 2 VC – isenta de óleo, 220 V.
- Para homogeneização das amostras em tubos de eppendorfs foi usado um Homogeneizador Nortecientífica modelo NH-2200, motor elétrico com velocidade regulável de 6 a 30 rpm, capacidade de 40 tubos, 110-220 V.

- As soluções aquosas foram feitas com água pura de um aparelho Milli-Q Ultra Pure Water System da marca Millipore (com resistividade igual a 18,2 MΩ cm), 220 V.
- As medidas espectrofotométricas foram executadas em um espectrofotômetro UV/vis da Agilent Technologies modelo Cary 60. Para os registros em solução, utilizou-se cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, na faixa de comprimentos de onda de 200 a 800 nm.

3.3 Simulação Computacional

Os cálculos computacionais foram realizados através do *software* gratuito ORCA e o funcional híbrido escolhido foi o B3LYP. Para o conjunto de base, aplicou-se o nível SVP para os átomos de H, C, N e O. As estruturas químicas isoladas foram construídas através do *software* AVOGADRO. As figuras de mérito foram obtidas através do *software* gratuito *Visual Molecular Dynamics* (VMD). Os cálculos foram performados utilizando modelo de solvatação implícita *Conductor-like Polarizable Continuum Model* (CPCM).

3.4 Procedimentos Experimentais

3.4.1 Quantificação de xilose com phloroglucinol

A quantificação de xilose foi feita pelo método espectrofotométrico descrito por Eberts *et al.* 1979. Para isso, preparou-se o reagente colorimétrico dissolvendo 0,5 g de phloroglucinol (> 99,0%) em 100,0 mL de ácido acético (> 99,7%) e acrescentou-se 10,0 mL de ácido clorídrico (37%). Em seguida uma alíquota de 0,4 mL da amostra com xilose foi misturada com 1,6 mL da solução de phloroglucinol em um tubo que foi vedado após a mistura. Na sequência a solução foi aquecida em banho de água fervente durante 10 minutos. Por fim, retirou-se o tubo do banho e aguardou-se 5 minutos para esfriar a solução e fazer a leitura no espectrofotômetro UV-Vis.

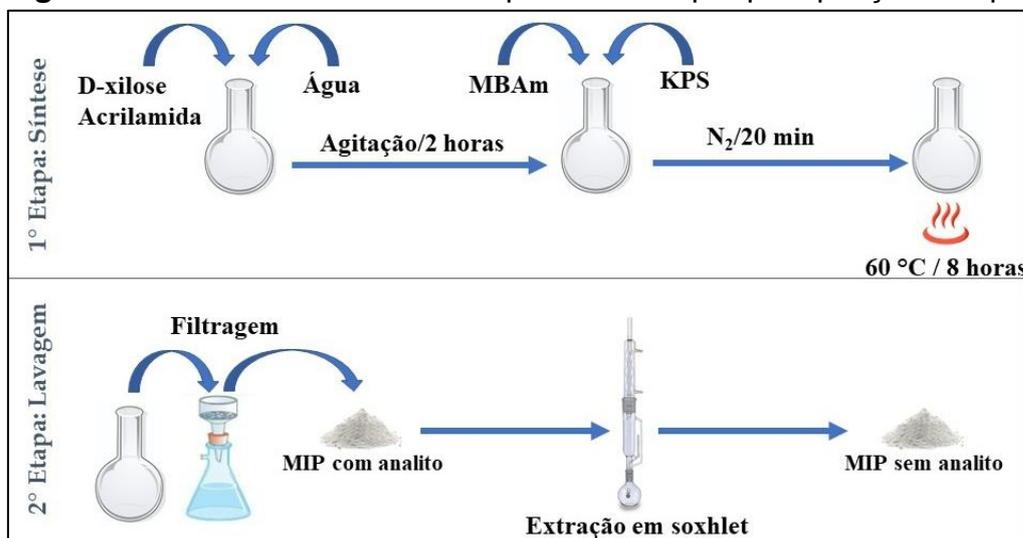
3.4.2 Determinação das melhores condições de síntese dos polímeros

3.4.2.1 Procedimento inicial

Seguiu-se o mesmo procedimento experimental de Ruiz-Córdova *et al.* (2021) partindo da homogeneização de 1,0 mmol de xilose (MM) com 2,0 mmol de ACR (MF)

em 40,0 mL de água destilada. A solução foi deixada sob agitação magnética por 2 h para interação entre MM e MF. Consecutivamente, 10,0 mmol de MBAm (ME) foi solubilizado na mistura e desareado sob fluxo de N₂ durante 10 minutos para remoção do oxigênio da solução. Logo, 0,185 mmol de KPS (IR) foi acrescentado e a solução desareada com N₂ novamente por mais 10 minutos. Finalmente, os frascos das soluções foram selados sob atmosfera anaeróbica e colocados em banho-Maria a 60 °C durante 22 horas. Após a obtenção do polímero, esse material passou por um processo de lavagem em sistema soxhlet com 100,0 mL de solução metanol/ácido acético (9:1, v/v). Para assegurar a remoção total do analito, foram feitas várias lavagens trocando a solução de extração a cada 6 horas. Em seguida, foi realizada uma última lavagem com água em funil de Büchner acoplado à bomba de vácuo. Por fim, o polímero foi seco e desaglomerado cuidadosamente com espátula para não danificar as cavidades do MIP. O NIP foi sintetizado seguindo o mesmo procedimento na ausência de xilose. Uma esquematização das etapas de síntese é mostrada na **Figura 5** para elucidação do processo.

Figura 5 - Procedimento realizado para síntese por precipitação dos polímeros.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

3.4.2.2 Procedimento otimizado

A síntese do MIP e NIP foi adaptada para seguir um procedimento semelhante ao de Ruiz-Córdova *et al.* (2021), porém com uma mistura de ACN e água como solvente. Inicialmente, 0,5 mmol de xilose e 2,0 mmol de ACR foram dissolvidos em um frasco reacional com 20,0 mL de solução água/ACN (1:19, v/v) e mantidos sob

agitação magnética por 2 horas para interação da MM com o MF. Em seguida, foram adicionados 5 mmol de MBAm e mais 50,0 mL de solução água/ACN (10:45, v/v). A mistura foi mantida sob agitação e desaerada com fluxo de N₂ por 10 minutos. Consecutivamente acrescentou-se 10,0 mg de AIBN e manteve-se o fluxo de N₂ por mais 15 minutos. Ao remover o fluxo de nitrogênio, o frasco foi selado sob atmosfera anaeróbica e mantido sob agitação magnética e aquecimento a 60 °C por 22 horas. Após finalizar a reação, o polímero obtido foi separado do sobrenadante por filtração a vácuo em funil de *Büchner* e seco a 50 °C por 6 horas. Um polímero não impresso (NIP) foi sintetizado pelo mesmo procedimento sem a presença de xilose. Posteriormente, ambos os polímeros foram submetidos a lavagens em sistema soxhlet usando refluxo de solvente para remoção de xilose do MIP e excesso de reagentes empregados na síntese. Para isso, foi utilizado como solvente de extração uma solução de água/etanol (50:50, v/v), onde foi feito a troca do solvente a cada 6 horas até não ser mais detectado o analito no solvente. Por último, foi realizado uma última lavagem com água e etanol em funil de Büchner acoplado à bomba de vácuo. O material final foi seco e homogeneizado usando uma espátula para não danificar as cavidades do MIP. As fotos do sistema reacional e o material obtido são mostradas na **Figura 6**.

Figura 6 - Etapas de síntese: a) Reação de polimerização por precipitação sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e controle de temperatura a 60 °C. b) material obtido após filtração a vácuo em funil de Büchner.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

3.4.3 Avaliação dos MIPs em ensaios de adsorção DSPE

Solução padrão: Uma solução padrão de xilose $100,0 \text{ mg L}^{-1}$, foi preparada dissolvendo $2,5 \text{ mg}$ desse açúcar em $1,0 \text{ mL}$ de água pura (Milli-Q) em um balão de $25,0 \text{ mL}$ e completando o volume com ACN ($\geq 99,9\%$). As demais soluções de xilose foram preparadas a partir da diluição desse padrão em ACN.

Ensaio de adsorção: Os ensaios foram executados adicionando $5,0 \text{ mg}$ dos polímeros avaliados a $1,5 \text{ mL}$ de xilose (diferentes concentrações) em *ependorfs* de $2,0 \text{ mL}$. Essa mistura foi homogeneizada por 120 minutos em homogeneizador de tubos e em seguida centrifugada para análise do sobrenadante. Todos os ensaios foram feitos em triplicata.

3.5 Caracterizações físico-químicas

3.5.1 Espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho foram registrados por um espectrofotômetro VERTEX 70 da BRUKER com detector DLaTGS (*Deuterated Lanthanum α Alanine doped TriGlycine Sulphate*). As leituras foram realizadas diretamente nos materiais sólidos.

3.5.2 Potencial Zeta

A carga superficial das partículas de MIP foi medida por um Analisador de Potencial Zeta, modelo Zetasizer Nano S90 da marca Malvern Panalytical. Para isso, $2,0 \text{ mg}$ do polímero foi disperso em $2,0 \text{ mL}$ de solução Tampão BR (Britton-Robinson) com $\text{KCl } 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para o controle do pH e da força iônica. Essa suspensão foi diluída 10 vezes utilizando a mesma solução tampão com KCl e analisada em triplicata no equipamento.

3.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As medidas foram executadas diretamente no pó dos polímeros através de um Microscópio Eletrônico de Varredura com emissão por campo (MEV-FEG) da marca JEOL, modelo JSM-IT500HR, equipado com detectores de elétrons secundários e retroespalhados.

3.5.4 Microscopia de Força Atômica (MFA)

Essa caracterização foi realizada em um Microscópio de Força Atômica Veeco, modelo Nanoscope III. O procedimento foi realizado por “Dip coating” em suspensões de MIP e de NIP em ACN ($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$).

3.5.5 Método BET (Brunauer-Emmett-Teller)

Caracterização feita em um analisador de área superficial Micromeritics Gemini VII 2390. A amostra foi submetida a um pré-tratamento de desgaseificação em uma corrente de hélio a $200 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora para eliminar a presença de solventes voláteis dentro dos poros dos sólidos. A isoterma de adsorção física de N_2 foi construída na faixa de pressão parcial de P/P_0 de 0,05 a 0,98 com uma taxa de difusão de equilíbrio de 7 s.

3.5.6 Análise Termogravimétrica (TGA)

As medições foram feitas no equipamento PerkinElmer STAkin modelo 6000 em uma faixa de temperatura de 35 a 600°C em uma rampa de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. A análise foi realizada em atmosfera inerte (fluxo de N_2 de $20 \text{ ml}/\text{min}$) para avaliar a composição térmica dos materiais poliméricos.

3.6 Estudo cinético de adsorção

Foi adotado o mesmo procedimento descrito nos ensaios DSPE da escolha do MIP (*tópico 3.4.3*), porém usando apenas o polímero já otimizado e variando o tempo de homogeneização para 5, 15, 30, 60, 120, 240 minutos.

3.7 Isotermas de adsorção

Os ensaios foram realizados de forma semelhante ao procedimento anteriores, porém com o tempo de homogeneização de 30 minutos e alterando as concentrações de xilose para 5,0; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0; 60,0; 70,0; 90,0; e $100,0 \text{ mg L}^{-1}$.

3.8 Estudo da seletividade

Nessa etapa, 5,0 mg de polímero foram homogeneizados durante 30 min com 1,5 mL de soluções separadas de L-rhamnose, L-arabinose, D-glucose, D-galactose, D-mannose e sacarose. Todas as soluções foram preparadas na concentração de

50,0 mg L⁻¹ de cada açúcar, partindo de uma solução padrão 100,0 mg L⁻¹ conforme a preparação de xilose descrito no tópico 3.4.3.

3.9 Avaliação de interferentes

Preparou-se misturas de dois açúcares em uma mesma solução, sendo um deles xilose e o outro uma hexose (D-glucose, D-galactose, D-manose). A concentração de todos os açúcares foi de 50,0 mg L⁻¹, partindo de 1,5 mL de solução padrão 100,0 mg L⁻¹ conforme descrito na seção 3.4.3. Essas soluções foram homogeneizadas com 5,0 mg dos polímeros por 30 min e feito a determinação de cada açúcar no sobrenadante.

3.10 Reutilização do MIP

Inicialmente, empregou-se 10 mg de MIP em ensaios de adsorção (triplicata) com 1,5 mL de solução de xilose 50 mg L⁻¹ e, analisou-se o sobrenadante com phloroglucinol. Posteriormente, o MIP foi separado do sobrenadante e lavado com água e etanol sob funil de Büchner acoplado a bomba de vácuo. Após secar o material, este foi pesado e empregado novamente em ensaios de adsorção nas mesmas condições do ensaio inicial. O processo foi repetido por três vezes.

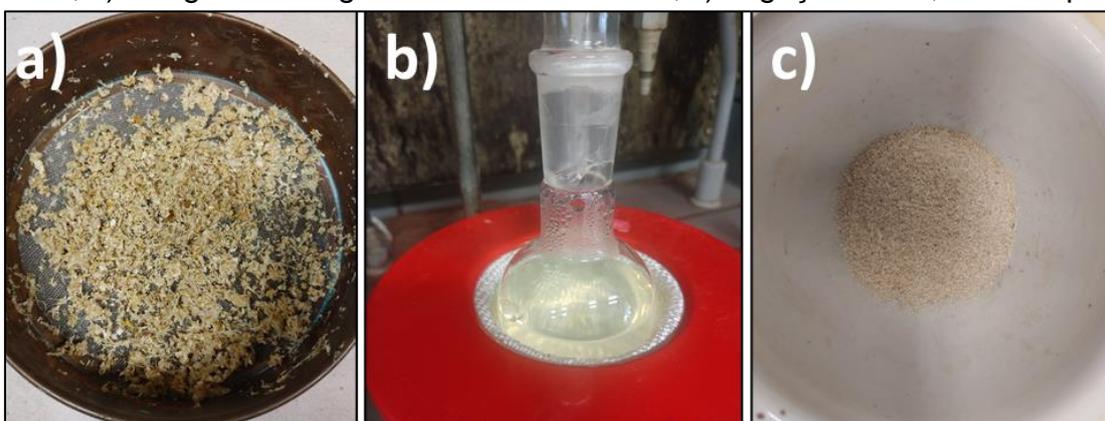
3.11 Aplicação em amostras reais

3.11.1 Bagaço de laranja (BL)

Preparação da amostra de BL: Para aplicação do polímero otimizado em amostras reais, foi feito a hidrólise ácida de bagaço de laranja do tipo *Citrus Sinensis* (Pera Rio), adquirida em um supermercado local de Araraquara-SP. O tratamento da biomassa foi realizado seguindo o procedimento padrão “*National Renewable Energy Laboratory – NREL*” (SLUITER *et al.*, 2010). Inicialmente a casca e o caldo da laranja foram removidos e lavou-se o bagaço com água e etanol. Em seguida, esse material foi seco, triturado em liquidificador e selecionado o tamanho de grânulos em peneira com abertura 0,42 mm. Consecutivamente, a biomassa foi lavada em sistema Soxhlet usando primeiramente água e posteriormente etanol para remoção dos extrativos solúveis nesses solventes. Após a secagem do bagaço limpo, pesou-se 300,0 mg de substrato em um frasco de 100,0 mL, acrescentou-se 3,0 mL de H₂SO₄ 72% (v/v) e

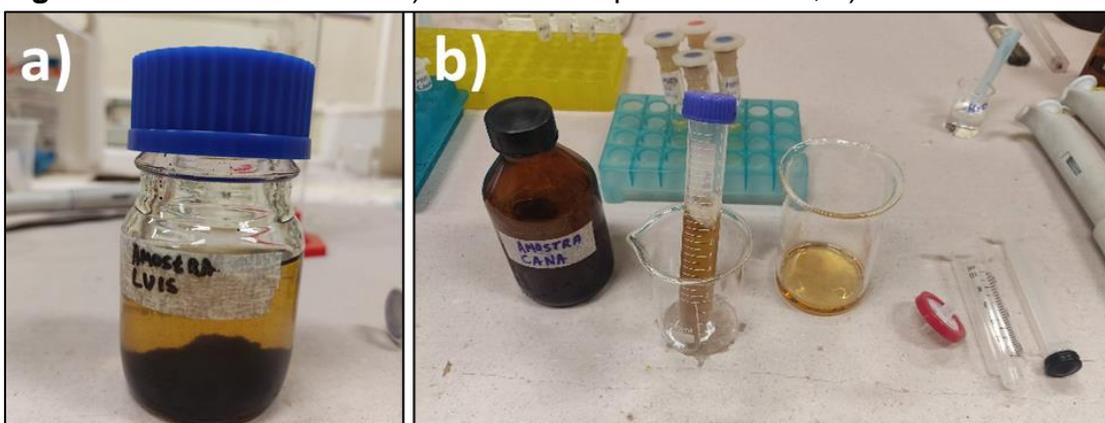
manteve-se o sistema sob agitação e aquecimento a 45 °C por 60 min. Completando o tempo de reação, a hidrólise foi interrompida acrescentando 85,0 mL de água destilada. Por fim, a mistura foi transferida para um frasco de reagente apropriado e autoclavado a 120 °C por 60 min. Após a descompressão da autoclave e resfriamento da amostra a temperatura ambiente, essa mistura foi filtrada em filtros de poro 0,45 µm para separação dos compostos insolúveis. Algumas etapas do tratamento do BL podem ser visualizadas nas figuras abaixo.

Figura 7 - Etapas de preparação do bagaço de laranja: a) lavagem com água e etanol a frio; b) lavagem com água e etanol em soxhlet; c) bagaço lavado, moído e peneirado.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Figura 8 - Amostras de BL a) hidrolisado após autoclave, b) hidrolisado filtrado.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

DSPE-MIP no hidrolisado hemicelulósico de BL: Na primeira etapa desse teste, uma alíquota de 1,0 mL de amostra foi diluída em 19,0 mL de ACN e filtrada em filtro de poro 0,45 µm para remoção da pectina insolúvel nesse solvente. Consecutivamente, transferiu-se 1,5 mL da solução de amostra para eppendorfs de

2,0 mL contendo 20,0 mg de MIP e NIP. Essa mistura foi homogeneizada por 30 minutos e em seguida, centrifugada para análise do sobrenadante.

3.11.2 Palha e bagaço de cana-de-açúcar (PBC)

Preparação da amostra de PBC: Nesse estudo foi utilizado uma amostra cedida gentilmente pelo Grupo de Microbiologia Aplicada a Bioprocessos – IQ Unesp, Araraquara, SP. O hidrolisado foi obtido a partir da palha da cana-de-açúcar (topos, folhas verdes e folhas secas) e bagaço adquirido da usina sucroalcooleira Santa Cruz-São Martinho, Américo Brasiliense, SP. A preparação foi feita mediante o seguinte procedimento: A mistura 1:1 palha/bagaço de cana-de-açúcar após caracterização foi submetida à hidrólise ácida (pré-tratamento). A etapa foi realizada no CNPEM – Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais, no laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE) na cidade de Campinas – SP. O reator utilizado possuía capacidade volumétrica útil de 250 litros, a hidrólise foi realizada utilizando uma relação sólido-líquido de 1:10, temperatura de 140 °C, concentração de ácido de 0,5 % (m/v) e um tempo de reação de 15 minutos. O hidrolisado hemicelulósico obtido, após ser filtrado para separação da massa sólida (celulignina), foi armazenado sob refrigeração a 4,0 °C para posterior caracterização quanto aos teores de açúcares e compostos tóxicos.

DSPE-MIP no hidrolisado hemicelulósico de PBC: Nessa etapa uma alíquota de 50 µL da amostra foi diluída em 25,0 mL de ACN e filtrada em filtro de poro 0,45 µm para remoção da pectina insolúvel nesse solvente. Posteriormente, transferiu-se 3,0 mL dessa solução para tubos Falcon de 5,0 mL contendo 20,0 mg de MIP e NIP. Essa mistura foi homogeneizada por 30 minutos e em seguida, centrifugada para análise do sobrenadante.

3.11.3 Análise de amostras reais por CLAE-IR

As amostras obtidas da etapa de hidrólise da biomassa foram previamente filtradas em cartuchos Sep-Pak C18 6 cc, 55-105 µm (Waters). Em seguida as soluções foram injetadas (volume de injeção de 20 µL) em um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) Shimadzu com detector de índice de refração (IR). Durante a cromatografia, os açúcares glicose, xilose e arabinose e o ácido acético foram separados através da utilização de fase móvel H₂SO₄ 0,01 N, em

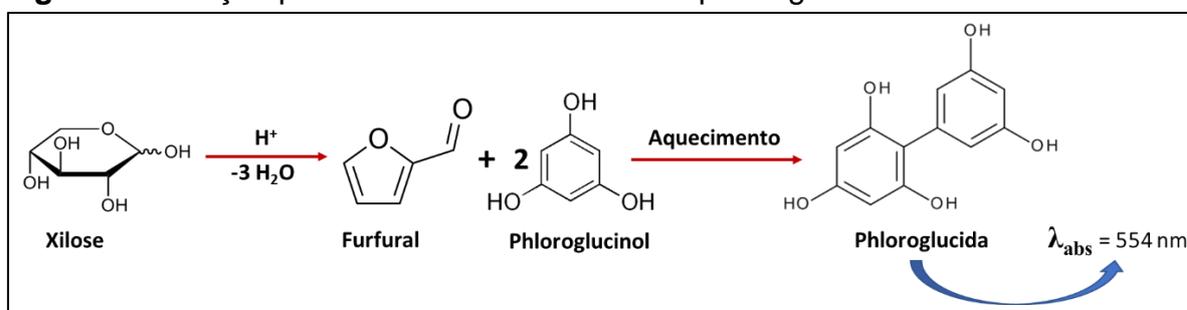
uma coluna analítica BIO-RAD AMINEX HPX-87H (300 X 7,8 mm) mantida à temperatura de 60 °C e velocidade de fluxo de 0,6 mL/min.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Determinação de xilose com phloroglucinol

Para a quantificação de xilose, foi feito inicialmente um levantamento bibliográfico dos métodos disponíveis na literatura, onde concluiu-se que o método espectrofotométrico de EBERTS *et al.*, 1979 seria o mais adequado em nossas análises. Isso por que esse método exibe um procedimento simples, rápido e com reagentes menos tóxicos em relação a outros métodos colorimétricos para determinação de sacarídeos, como por exemplo, DNS (MILLER, 1959), Fenol-sulfúrico (NIELSEN; SCIENCE; SERIES, 2010) e Bial's (PHAM *et al.*, 2011). O processo é baseado na reação de desidratação de pentoses para formação de furfuraldeído, o qual posteriormente reage com phloroglucinol gerando phloroglucida, um composto aromático com máximo de absorbância em 554 nm (**Figura 9**).

Figura 9 - Reação para conversão de xilose em phloroglucida.



Fonte: Adaptado de (KISZONAS; COURTIN; MORRIS, 2012).

Outros autores realizaram ajustes no procedimento para reproduzir a mesma reação de acordo com a necessidade da análise, onde pode haver variações de matriz e faixa de concentração do analito. Hermida *et al.* (2014), modificaram o método de Eberts *et al.* (1979), diminuindo o volume final da reação de 5,0 para 2,0 mL e adequando a curva de calibração de 1,035 - 19,6 mg L⁻¹ para 0,125 - 5,0 mg L⁻¹. Chi *et al.* (2013), mostrou que um procedimento semelhante pode ser feito com hexoses para formação de um produto com máximo de absorvância em 410 nm, permitindo a análise simultânea de amostras com uma mistura de pentoses e hexoses.

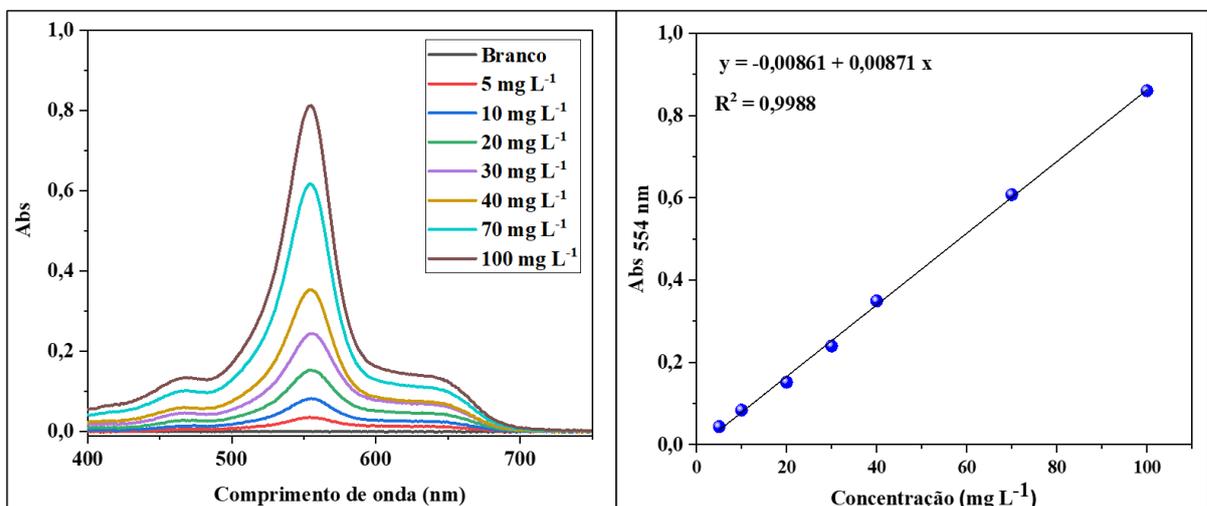
Por esse motivo, essa metodologia foi ainda mais interessante para a proposta desse projeto, uma vez que, a quantificação de cada açúcar em uma mistura, facilita o estudo de interferentes de adsorção do MIP. Em nossas análises o reagente phloroglucinol foi preparado da mesma forma que Eberts *et al.* (1979), no entanto, ajustamos a quantidade de solução sacarídea para 400 μL e 1,6 mL de phloroglucinol, pois exibiu uma coloração mais intensa para a mesma concentração de xilose. Além disso, o tempo de aquecimento da reação foi ajustado para 10 minutos, pois de acordo com Chi *et al.* (2013), esse intervalo é mais adequado para quantificação de pentoses e hexoses em uma mesma amostra. As curvas de calibração foram construídas para xilose em água e em ACN. As imagens do procedimento e os resultados podem ser vistos a seguir.

Figura 10 - Fotos do procedimento para quantificação de xilose.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Figura 11 - Espectros da curva de calibração de xilose em meio aquoso e ajuste linear das absorvâncias em 554 nm.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

O Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) obtidos para essa calibração foram de $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,46 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente. Os cálculos de LD e LQ foram feitos de acordo com o guia do ICH (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, 2005).

$$LD = \frac{3,3 DP}{S} \quad (1)$$

$$LQ = \frac{10 DP}{S} \quad (2)$$

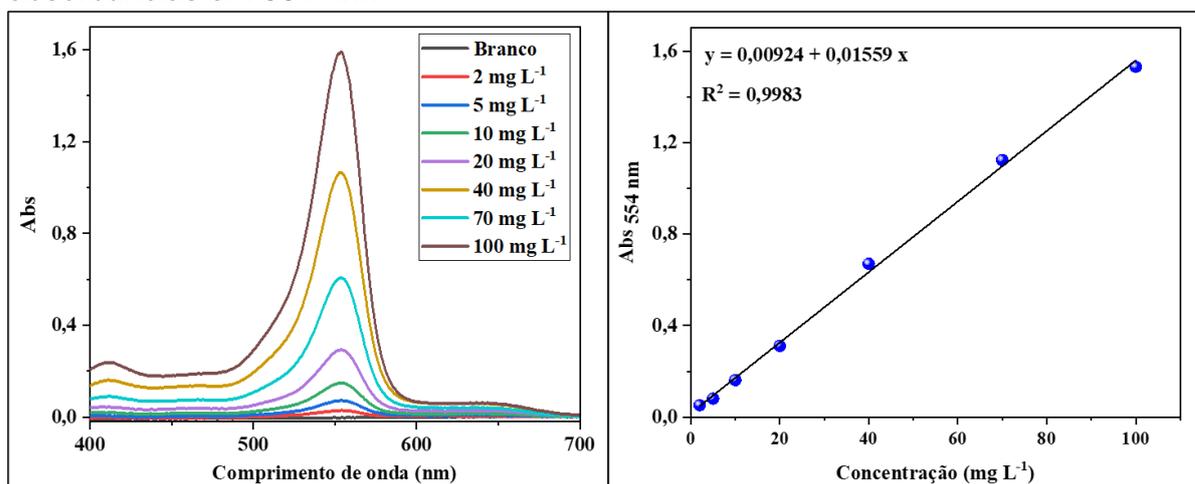
Onde:

DP = desvio padrão dos brancos da amostra

S = coeficiente angular da curva de calibração

Em ACN, foram obtidos os seguintes resultados da curva de calibração.

Figura 12 - Espectros da curva de calibração de xilose em ACN e ajuste linear das absorbâncias em 554 nm.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

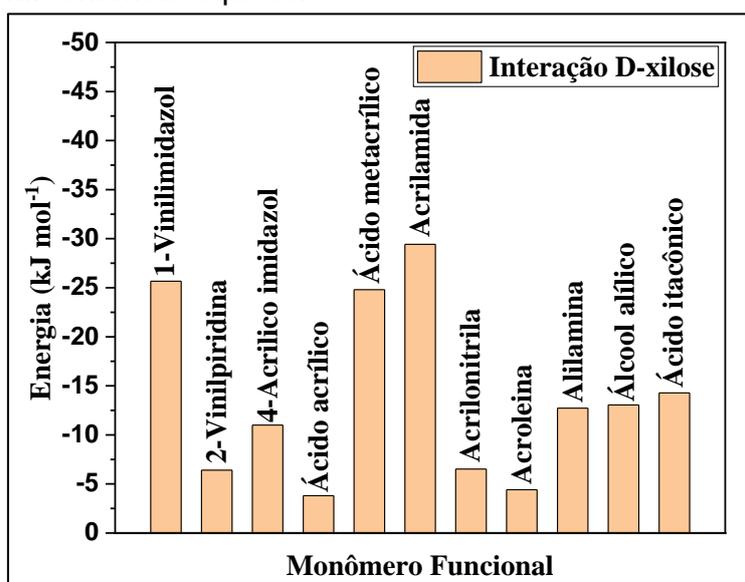
Através das equações 1 e 2, em ACN obteve-se $LD = 0,16 \text{ mg L}^{-1}$ e $LQ = 0,49 \text{ mg L}^{-1}$. Apesar da absorbância de phloroglucida em ACN ser mais intensa na mesma concentração de xilose em meio aquoso, os LD e LQ foram bastante similares nesses solventes por causa do maior desvio padrão do branco em ACN ($DP^{ACTN} = 0,00076$, $DP^{água} = 0,0004$), mostrando que o ruído é maior no solvente orgânico.

4.2 Determinação das melhores condições de síntese dos polímeros

4.2.1 Procedimento inicial

O ponto de partida da síntese foi a escolha de xilose como MM para impressão no polímero e de água como solvente porogênico, pois é um solvente capaz de solubilizar a xilose facilmente, além de ser atrativo do ponto de vista econômico e ambiental. A partir disso investigou-se através da Teoria do Funcional da Densidade (DFT), a interação entre xilose e diferentes MF comumente utilizados em polimerização com impressão molecular. Dentre os monômeros avaliados, a acrilamida (ACR) foi escolhida por apresentar maior energia de interação química com a xilose em meio aquoso, conforme pode ser visualizado na **Figura 13**.

Figura 13 - Resultados de DFT para energias de interação entre xilose e diferentes MF em meio aquoso.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

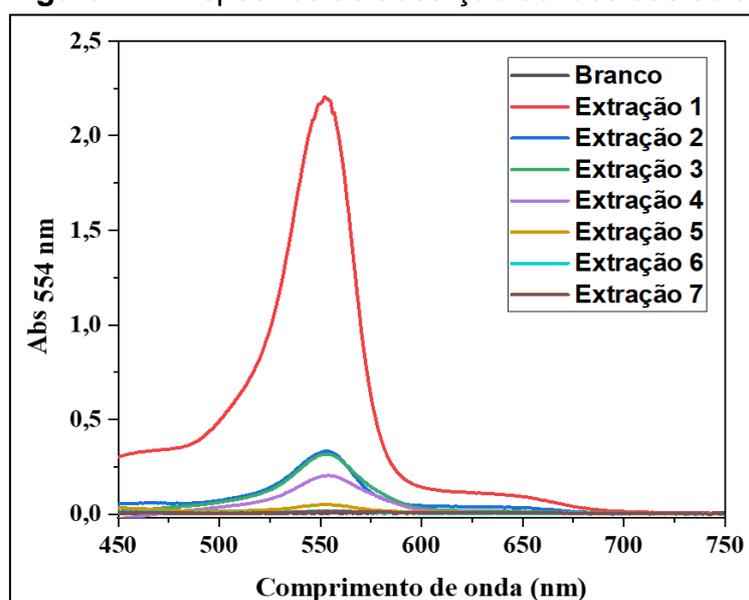
A partir desse resultado, selecionou-se o procedimento de síntese de MIP já seguido pelo grupo de pesquisa conforme os estudos de Ruiz-Córdova *et al.* (2021), onde utilizou-se o mesmo MF para polimerização por precipitação em meio aquoso. Desse modo, o ME selecionado para a síntese do MIP e NIP foi o NBA_m (*N,N'*-Metilenobisacrilamida) e a razão molar MM/MF/ME inicial da síntese foi 1/2/10. Os parâmetros de síntese seguidos inicialmente são mostrados na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Composição empregada na primeira síntese dos polímeros.

Composição	MIP1 ou NIP1
MM	Xilose
MF	ACR
ME	NBAm
Razão: T/MF/ME	1/2/10
Solvente	Água
IR	KPS

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Após a síntese, prosseguiu-se com a lavagem do MIP e NIP em um sistema soxhlet com solução de metanol: ácido acético (9,1, v/v), que foi trocada a cada 12 h para extração de xilose e excessos de reagentes usados na síntese (PIZAN-AQUINO *et al.*, 2020). A quantidade de lavagens necessárias foi determinada experimentalmente quantificando a MM em cada extração até que não fosse mais detectada pelo método proposto. Apesar de não haver xilose presente no NIP, o mesmo procedimento foi adotado para assegurar que ambos os polímeros fossem obtidos nas mesmas condições. A lavagem dos polímeros não foi realizada seguindo a mesma referência da síntese Ruiz-Córdova *et al.* (2021), pois nesse estudo é utilizado uma solução básica de hidróxido de amônio, inviabilizando a quantificação do analito pelo método colorimétrico adotado que exige o pH ácido.

Figura 14 - Espectros de absorção obtidos das soluções de lavagem do MIP.

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Consecutivamente, o MIP e NIP produzidos foram avaliados em ensaios de adsorção com soluções de xilose em água deionizada em duas concentrações diferentes. Nesses ensaios, 10,0 mg de MIP e NIP foram homogeneizados com 1,5 mL de cada solução em tubos de *ependorffs* durante 4 horas. Sabendo a concentração do analito antes e após a homogeneização com os polímeros, é possível determinar sua porcentagem de adsorção (%ads) pela Equação 3:

$$\%ads = \frac{(C_0 - C_e) 100}{C_0} \quad (3)$$

Onde:

C_0 = concentração inicial de xilose.

C_e = concentração de equilíbrio xilose após homogeneização com o polímero.

Os ensaios foram feitos em triplicata e os valores médios obtidos em cada situação são apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2 - Resultados dos ensaios utilizando 5,0 mg de polímero e 1,5 mL de solução aquosa de xilose.

Material	C_0 (mg L ⁻¹)	C_e^{MIP} (mg L ⁻¹)	C_e^{NIP} (mg L ⁻¹)	%ads ^{MIP}	%ads ^{NIP}
MIP1 ou NIP1	26,44	25,75 ± 0,29	25,92 ± 0,13	2,6 ± 1,36	1,96 ± 0,59
	69,46	69,55 ± 0,13	66,84 ± 0,25	0,14 ± 0,19	3,77 ± 0,37

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Verifica-se nos resultados que não houve adsorção considerável de xilose pelo MIP e NIP nesses ensaios. Dado o insucesso de religação do analito nas condições mencionadas, verificou-se o efeito do pH nesse processo, realizando-se novos testes com tampão BR (Britton-Robinson) nos pH 3, 7 e 11.

Tabela 3 - Resultados dos ensaios utilizando 5,0 mg de polímero e 1,5 ml de solução de xilose em Tampão BR ajustado nos pH 3, 7 e 11.

Material	pH	C_0 (mg L ⁻¹)	C_e^{MIP} (mg L ⁻¹)	C_e^{NIP} (mg L ⁻¹)	%ads ^{MIP}	%ads ^{NIP}
MIP1 ou NIP1	3	21,31	23,89	21,77	-12,09	-2,17
	7	19,76	18,59	19,28	5,90	2,39
	11	21,36	19,07	20,09	10,72	5,95

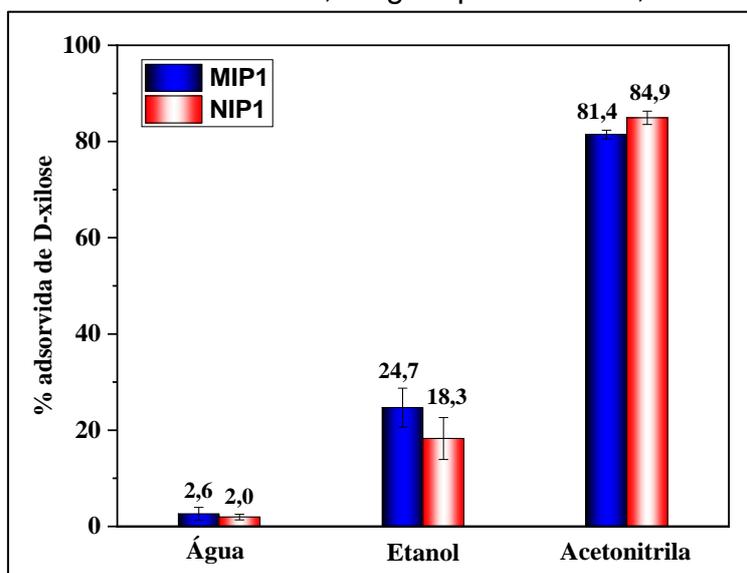
Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Novamente a variação na concentração do analito após os ensaios se apresentou muito baixa em todos os valores de pH. Os experimentos de religação foram repetidos com maiores massas de polímero e maior tempo de homogeneização, mas os resultados permaneceram similares. Perante isso, concluiu-se que os polímeros não se ligaram a xilose devido a solvatação desse açúcar em água, a qual é estabilizada por ligações de hidrogênio, tornando a adsorção desfavorável.

Os resultados de %ads negativos são atribuídos a situações onde a absorbância da solução homogeneizada com os polímeros ultrapassou ligeiramente a absorbância da mesma solução antes de passar pelo polímero. Isso pode acontecer devido a erros associados ao procedimento experimental e ao próprio método empregado por ser uma quantificação indireta do analito.

Diante dessas considerações, foi estudado o comportamento de adsorção dos polímeros frente a soluções de xilose com etanol e ACN, os quais são solventes orgânicos menos polares que a água. Devido insolubilidade da xilose em ACN e etanol puros a temperatura ambiente, foi necessário fazer uma mistura com água para sua solubilização. Logo, foram preparadas soluções de xilose com água:ACN (1:24 v/v) e água:etanol (1:24 v/v), de acordo com o procedimento descrito no *tópico* 3.4.3. A baixa proporção de água foi sugerida buscando favorecer a adsorção de analito aos polímeros. Os resultados de cada solvente testado na adsorção são ilustrados na **Figura 15**.

Figura 15 - Porcentagem de adsorção do analito em função do solvente. Ensaio realizado utilizando 5,0 mg de polímero e 1,5 mL de solução 20,0 mg L⁻¹ de xilose.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Como pode ser visto na **Figura 15**, a adsorção de xilose aos polímeros foi maior na solução de ACN, o que pode ser justificado por se tratar de um solvente aprótico e menos polar que água e etanol, ou seja, possui menor capacidade de solvatação desse analito. Diante disso, padronizamos os ensaios de adsorção nessas condições de mistura água/ACN. Em virtude do sucesso de adsorção nesse solvente, mais dois parâmetros foram considerados para avaliar o desempenho dos polímeros: a capacidade de adsorção no equilíbrio (Q_e) e o Fator de Impressão (FI). O valor de Q_e indica quantos mg de analito foram adsorvidos por grama de polímero após a concentração do analito atingir o equilíbrio de adsorção.

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e) V}{m} \quad (4)$$

Onde:

C_0 = Concentração inicial de analito

C_e = Concentração de equilíbrio do analito

V = volume

m = massa

O FI representa a magnitude da impressão molecular e deve ser maior que um para qualquer impressão bem-sucedida. Esse parâmetro é calculado através do coeficiente de distribuição (K_d) do MIP e NIP, o qual expressa a capacidade adsortiva do polímero em uma dada concentração de equilíbrio do analito.

$$FI = \frac{K_d(MIP)}{K_d(NIP)} \quad (5)$$

$$K_d = \frac{Q_e}{C_e} \quad (6)$$

Onde:

$K_d(MIP)$ = Coeficiente de distribuição do MIP

$K_d(NIP)$ = Coeficiente de distribuição do NIP

Q_e^{MIP} = Capacidade adsortiva de equilíbrio do MIP

Q_e^{NIP} = Capacidade adsortiva de equilíbrio do NIP

Vale notar que, o *FI* é dependente da concentração do analito e do solvente usado nos ensaios de religação. Assim, quanto maior o valor de *FI*, maior o indicativo que a impressão foi bem-sucedida e gerou sítios de ligação seletiva, diferente da captação não seletiva que ocorre no polímero controle (NIP). A fim de avaliar se a impressão molecular foi bem sucedida nas condições mencionadas, os valores de Q_e e *FI* foram calculados a partir dos resultados obtidos dos ensaios de adsorção em ACN.

Tabela 4 - Fatores de adsorção dos ensaios com 5,0 mg de polímero e 1,5 mL de solução 20,0 mg L⁻¹ de xilose em ACN.

Material	%ads ^{MIP}	%ads ^{NIP}	Q_e^{MIP} (mg g ⁻¹)	Q_e^{NIP} (mg g ⁻¹)	<i>FI</i>
MIP1 ou NIP1	81,44 ± 0,90	84,93 ± 1,4	4,75 ± 0,06	4,99 ± 0,10	0,77

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Apesar da alta porcentagem de adsorção dos polímeros em ACN, o *FI* foi menor que 1 devido a semelhança de adsorção do MIP e NIP. Tal resultado indica que a adsorção de xilose ao polímero não ocorreu através de cavidades seletivas com forma e tamanho do analito, por tanto a adsorção não é específica.

4.2.2 Procedimentos realizados para otimizar a síntese

Diante das informações discutidas, novas sínteses foram realizadas com base em outros trabalhos de MIP para monossacarídeos por interação não covalente.

Tabela 5 - Composição empregada na síntese do MIP2 ou NIP2, MIP3 ou NIP3, MIP4 ou NIP4.

Composição	MIP2 ou NIP2	MIP3 ou NIP3	MIP4 ou NIP4
MM	Xilose	Xilose	Xilose
MF	ACR	MAA	ACR
ME	EGDMA	EGDMA	NBAm
MM/MF/ME	1/4/20	1/4/20	1/2/10
Solvente	DMSO	Metanol	ACN 75%
IR	AIBN	AIBN	KPS

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

A composição do MIP2 e NIP2 foi seguida conforme um estudo de MIP feito com galactose reportado por Okutucu; Önal e Telefoncu (2009). Para a produção do MIP3 e NIP3, a síntese foi realizada de acordo com Alexander *et al.*, (2017), onde os autores preparam uma superfície de óxido de grafeno modificada com MIP para aplicação como sensor de glicose. Já a constituição do polímero MIP3 e NIP3 foi semelhante a composição da síntese inicial (**Tabela 1**), a fim de avaliar a mudança do solvente. A porcentagem de ACN foi sugerida devido a insolubilidade da MM e ME nesse solvente puro a temperatura ambiente, por isso é necessário fazer sua diluição em água. Esses polímeros foram empregados em ensaios de adsorção com soluções de xilose em ACN do mesmo modo que o MIP1 e NIP1. Os resultados alcançados são mostrados na **Tabela 6**.

Tabela 6 - Fatores de adsorção obtidos dos ensaios com 5,0 mg dos novos materiais e 1,5 mL de solução 20,0 mg L⁻¹ de xilose em ACN.

Material	%ads ^{MIP}	%ads ^{NIP}	Q _e ^{MIP} (mg g ⁻¹)	Q _e ^{NIP} (mg g ⁻¹)	FI
MIP2 ou NIP2	1,03 ± 1,01	1,5 ± 0,71	0,05 ± 0,05	0,08 ± 0,04	0,69
MIP3 ou NIP3	0,61 ± 0,42	2,59 ± 1,43	0,04 ± 0,02	0,15 ± 0,08	0,23
MIP4 ou NIP4	79,59 ± 2,73	71,78 ± 2,48	4,5 ± 0,15	4,05 ± 0,14	1,53

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

A **Tabela 6** mostra que o MIP4 e NIP4 tem maior potencial para adsorção seletiva de xilose, com alta porcentagem de adsorção e *FI* > 1. Com isso, inferiu-se que a mudança do solvente de síntese para um de menor polaridade e aprótico favoreceu a impressão molecular, aumentando o *FI* de 0,77 dos polímeros feitos em água para 1,53 dos polímeros feito em ACN 75%.

Vários estudos da literatura relatam que a preparação de MIPs com moléculas altamente hidrofílicas, como açúcares e aminoácidos, não é uma tarefa fácil em meio aquoso, devido a formação de ligações de hidrogênio da água com esses analitos. Por esse motivo, é preferível que se utilize um solvente de polaridade mais baixa e aprótico para favorecer a formação do complexo MM:MF (HADIZADEH; ZAKERIAN; MOHAJERI, 2013; HASANAH *et al.*, 2020; NDUNDA, 2020). Nesse sentido, Okutucu e Önal (2011) e Yanti *et al.*, (2016) reportam a síntese de polímeros molecularmente impressos com açúcares utilizando clorofórmio como solvente, entretanto, em função

da toxicidade desse solvente, este não foi testado em nossos estudos. Sendo assim, um novo procedimento foi desenvolvido para continuar usando uma mistura de ACN e água, porém com menor porcentagem de água para favorecer a interação da MM com o MF e conseqüentemente aumentar o *FI*.

4.2.3 Síntese otimizada

Com o intuito de aumentar o *FI*, uma série de novas sínteses foram realizadas usando como solvente uma mistura de 64,0 mL de ACN e 11,0 mL de água pura, totalizando 75,0 mL de solução. Em virtude de a ACN representar 85,3% desse volume, abreviamos o nome do solvente para ACN 85%. A proporção de água e ACN foi definida buscando usar a menor quantidade de água necessária para a solubilização de todos os componentes do meio reacional. Além disso, as sínteses foram investigadas variando a composição e proporção de MM/MF/ME (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Composição empregada na síntese otimizada dos polímeros.

Composição	MIP5 ou NIP5	MIP6 ou NIP6	MIP7 ou NIP7	MIP8 ou NIP8	MIP9 ou NIP9
MM	Xilose	Xilose	Xilose	Xilose	Xilose
MF	ACR	MAA	ACR	ACR	ACR
ME	NBA _m	NBA _m	EGDMA	NBA _m	NBA _m
MM/MF/ME	1/2/10	1/2/10	1/2/10	1/4/10	1/4/20
Solvente	ACN 85%				
IR	AIBN	AIBN	AIBN	AIBN	AIBN

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Devido o maior volume de solvente orgânico, o IR da polimerização foi trocado para AIBN por ser mais solúvel nesse meio do que KPS. Os resultados obtidos nas condições padronizadas dos ensaios de adsorção são mostrados na **Tabela 8**.

Tabela 8 - Fatores de adsorção obtidos dos ensaios com 5,0 mg dos polímeros da síntese otimizada e 1,5 mL de solução 20,0 mg L⁻¹ de Xilose em ACN.

Material	%ads ^{MIP}	%ads ^{NIP}	Q _e ^{MIP} (mg g ⁻¹)	Q _e ^{NIP} (mg g ⁻¹)	FI
MIP5 ou NIP5	82,81 ± 0,91	66,67 ± 4,01	4,45 ± 0,40	3,50 ± 0,55	2,28
MIP6 ou NIP6	46,87 ± 1,73	44,87 ± 0,51	3,29 ± 0,12	3,15 ± 0,40	1,08
MIP7 ou NIP7	1,55 ± 1,69	1,60 ± 4,12	0,10 ± 0,10	0,10 ± 0,25	0,92
MIP8 ou NIP8	72,77 ± 1,99	44,49 ± 1,97	4,15 ± 0,11	2,54 ± 0,11	3,34
MIP ou NIP9	78,39 ± 0,58	67,04 ± 1,52	4,92 ± 0,36	4,20 ± 0,10	1,78

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Com base nos valores de *FI* escolheu-se as condições de síntese do MIP8 e NIP8 para prosseguir com os estudos de caracterização e adsorção.

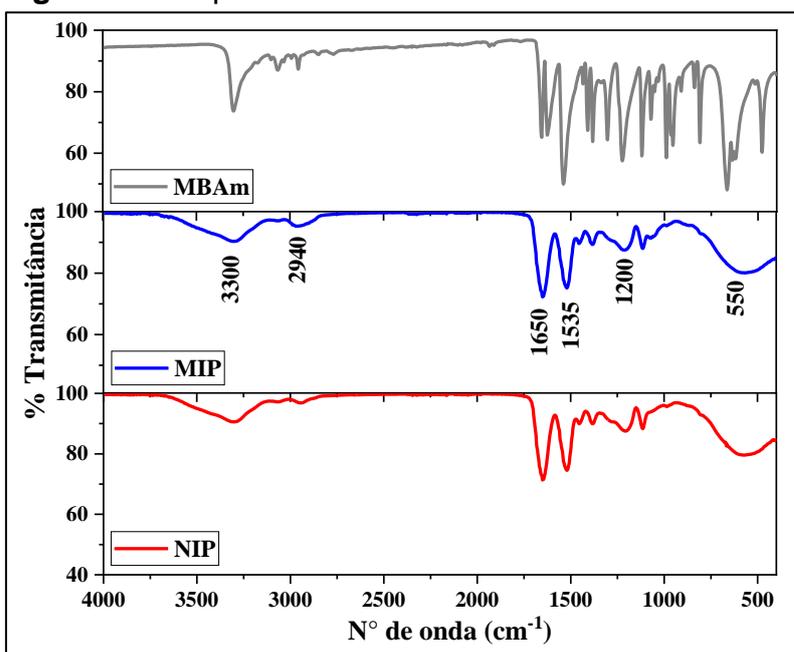
4.3 Caracterização dos polímeros otimizados

Em estudos sobre o desenvolvimento de polímeros biomiméticos é importante investigar as propriedades físicas e químicas dos materiais para justificar seu comportamento, verificar os efeitos da impressão molecular e propor possíveis aplicações. Especialmente quando o MIP é empregado em técnicas de separação, é fundamental que se conheça as características de superfície e porosidade do polímero para compreender o mecanismo de adsorção. Sabendo disso, nesse trabalho os polímeros foram caracterizados por Potencial Zeta, FTIR, MEV, ATM, BET e Análise Térmica.

4.3.1 Espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização por FTIR foi feita a fim de investigar a composição química dos materiais obtidos e verificar possíveis diferenças entre MIP e NIP. As medidas também foram realizadas no ME (MBAm) para fins de comparação, pois esse é o componente em maior quantidade na síntese dos polímeros, responsável pela robustez do material. Os resultados são representados na **Figura 16**.

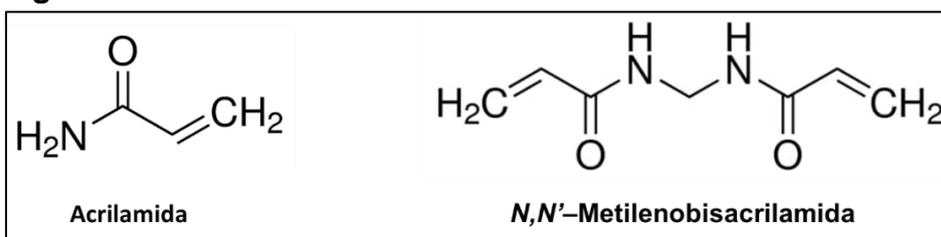
Figura 16 - Espectros vibracionais de FTIR obtidos do MIP, NIP e MBAm.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Para elucidação dos resultados é importante observar a estrutura química dos principais reagentes usados na síntese dos polímeros para identificação de cada modo vibracional.

Figura 17 - Estrutura do MF e ME usados na síntese do MIP e NIP.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Analisando os resultados, verifica-se que os espectros obtidos para o MIP e NIP foram bastante similares e com algumas bandas na mesma região da MBAm. A semelhança dos espectros entre MIP e NIP se deve ao fato de ambos terem a mesma composição química, sendo diferenciados apenas pela disposição dos grupos funcionais nas cavidades seletivas do MIP. As bandas do ME em comum com MIP e NIP eram esperadas, uma vez que esses polímeros são constituídos majoritariamente pelo monômero estrutural e, em menor proporção pelo MF, que nesse caso apresenta uma estrutura bastante semelhante com o ME. Observa-se ainda, um número menor de bandas nos espectros dos polímeros em relação à MBAm, pois os modos de

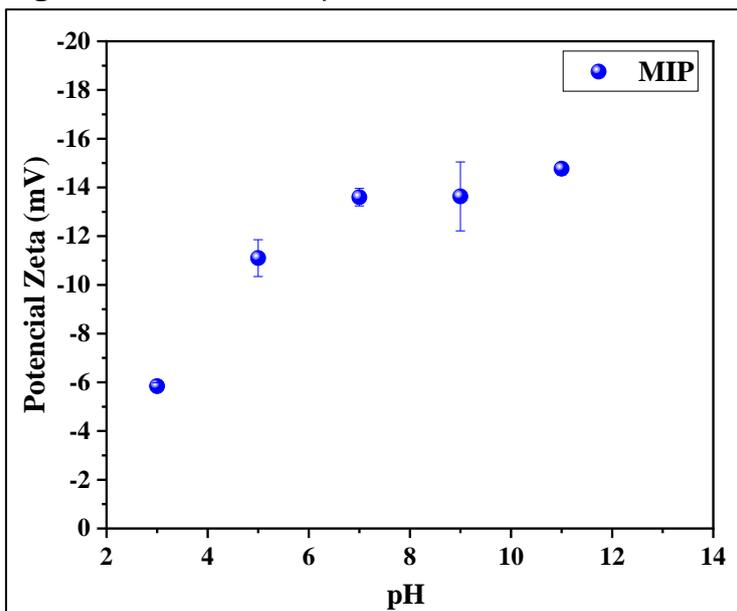
vibração entre 800 e 1400 cm^{-1} são advindos de ligações C=C, as quais são convertidas em ligações simples durante a polimerização. Na região de 955, 1535 e 3300 cm^{-1} , são vistas bandas referentes aos modos vibracionais de ligação N-H. Em 700 e 2940 cm^{-1} , os modos de vibração são atribuídos aos estiramentos de ligações C-H. As bandas próximas a 1655 e 1200 cm^{-1} podem ser associadas a ligações C=O e C-N, respectivamente (MAGALHÃES *et al.*, 2012; REDDY; GANDHAM, 2014; SABBAGH; IDAYU, 2017).

4.3.2 Potencial Zeta

O Potencial Zeta é uma caracterização feita para prever a carga elétrica de partículas em um líquido e a estabilidade da suspensão. O termo “Zeta” advém da letra grega zeta (ζ) usada para sua representação em química de colóides, ou seja, ζ -potencial. Essa grandeza expressa a diferença de potencial entre o meio de dispersão e a dupla camada elétrica formada na interface das partículas. Conhecendo o potencial zeta, é possível determinar a carga das partículas e conseqüentemente sua tendência a aglomeração. Além disso, a medida da carga elétrica das partículas fornece informações importantes sobre a química de adsorção, uma vez que o pH do meio circundante pode interferir no desempenho de ligação do analito ao adsorvente.

Nesse estudo as medidas do potencial zeta foram feitas em função do pH, a fim de saber o ponto de carga zero do polímero e, assim, averiguar se a adsorção de xilose ocorreria nessa condição. As análises foram feitas apenas no MIP que é o adsorvente principal e tem a mesma a composição do NIP, por tanto, assumimos que não há diferenças consideráveis na carga desses materiais. Os resultados obtidos são mostrados a seguir.

Figura 18 - Dados de potencial Zeta do MIP em função do pH.



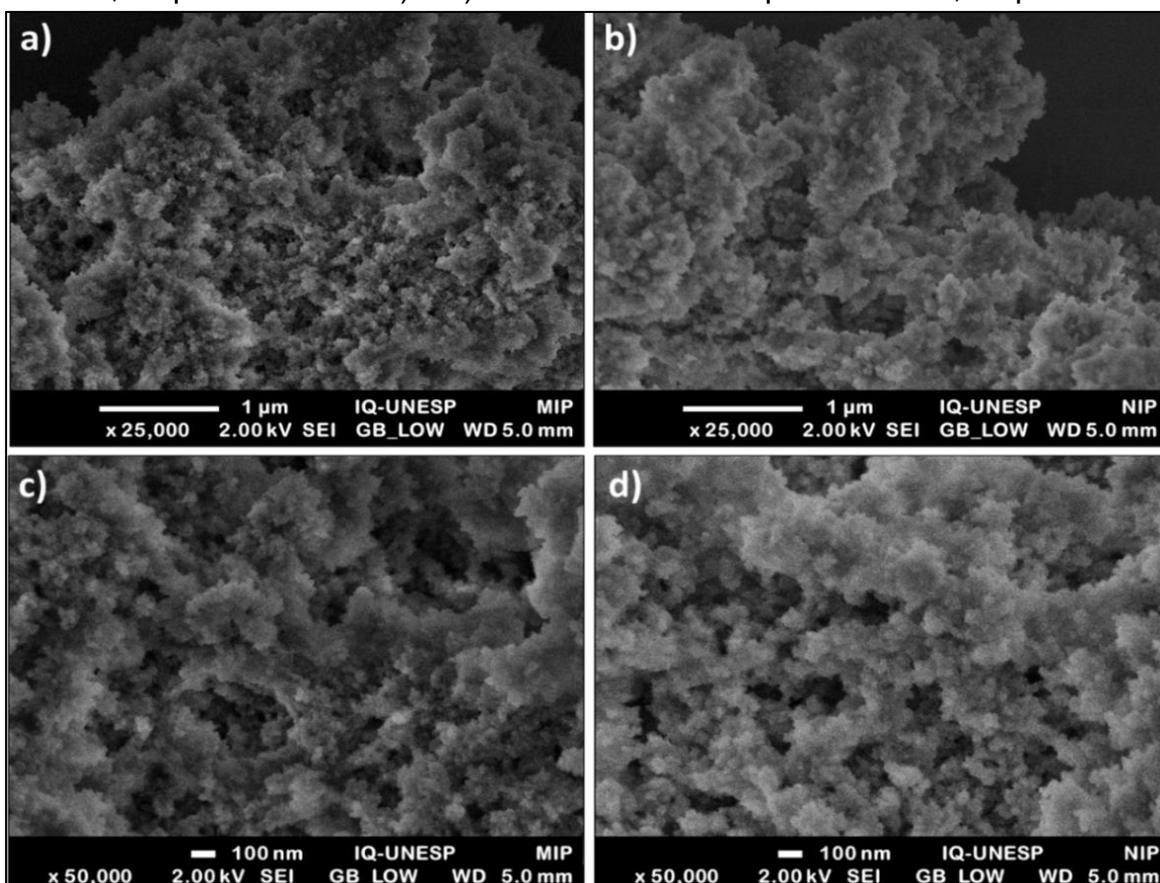
Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

De acordo com os dados da **Figura 18**, nota-se a tendência natural do potencial zeta diminuir (ficar mais negativo) em função do aumento de pH, pois quanto maior o pH, maior a concentração de íon hidróxido no meio. Os resultados demonstram que o MIP possui carga negativa em todos os valores de pH testados. Isso indica que as partículas apresentam forças de natureza repulsiva e por isso, pouca tendência a aglomeração. Em relação a influência do pH na adsorção, podemos observar que mesmo em $\text{pH} = 3$ não foi alcançado o ponto de carga zero do polímero, revelando que esse estado só é atingido em pH mais ácidos, o que não é viável para os nossos estudos. Apesar do ponto de carga zero não ter sido obtido, os testes de adsorção em pH ácido, neutro e básico, foram executados para averiguar se ocorreria adsorção do analito, porém isso não foi observado conforme apresentado na **Tabela 3**.

4.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Essa é uma técnica onde um feixe de elétrons incidentes varre a superfície da amostra e ao interagir com a matéria, gera sinais que são captados por detectores para formar imagens detalhadas sobre morfologia do material em escala milimétrica a nanométrica. Dessa maneira, a através da MEV podemos investigar a microestrutura de partículas e correlaciona-la com suas propriedades, a fim de otimizar o material e/ou propor novas aplicações. Logo, essa caracterização foi realizada com o objetivo de avaliar a forma, tamanho e distribuição das partículas do MIP e NIP.

Figura 19 - Micrografias dos polímeros otimizados: a) e c) MIP na escala de 1 μm e 100 nm, respectivamente. b) e d) NIP na escala de 1 μm e 100 nm, respectivamente.



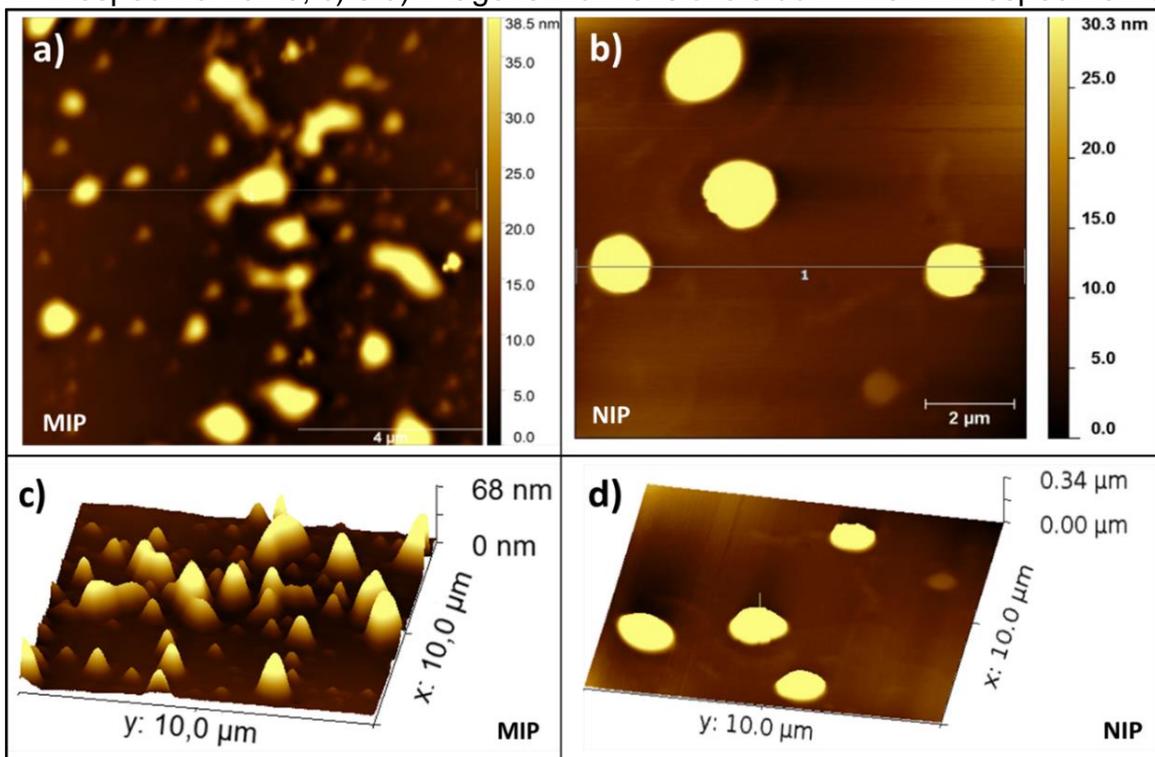
Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

De acordo com as microscopias obtidas, ambos o MIP e NIP demonstraram características de superfície semelhantes, apresentando partículas rugosas, com formato aproximadamente esférico e agregadas. Apesar da similaridade entre os materiais, pode ser observado que as partículas de NIP são suavemente mais aglomeradas que as do MIP. Podemos concluir com isso que, a impressão molecular colaborou com a melhor distribuição de partículas do polímero, uma vez que a MM atua como um centro de nucleação durante a formação desse material. Devido a aglomeração e irregularidade das partículas não foi possível determinar seu tamanho médio por essa técnica, porém as micrografias evidenciam que são partículas nanométricas.

4.3.4 Microscopia de Força Atômica (MFA)

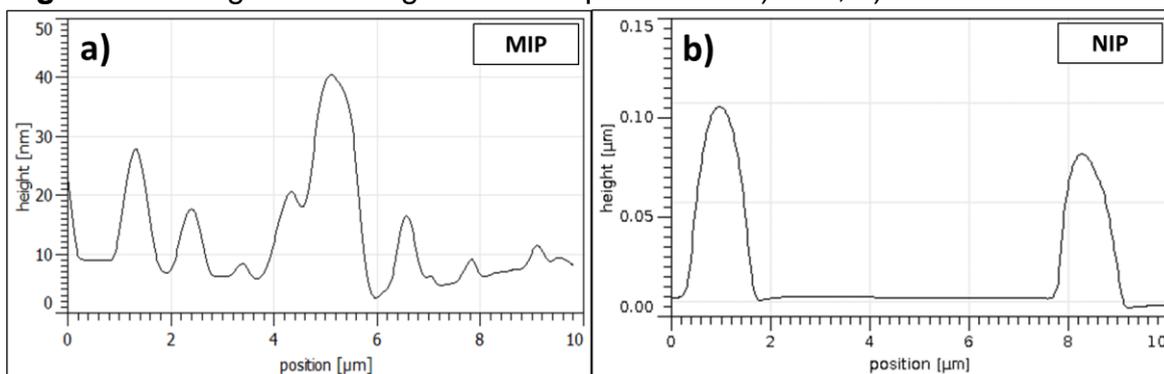
Neste tipo de microscopia as imagens são geradas através da medida das forças de atração ou repulsão entre a superfície da amostra e uma sonda ou agulha bem fina que varre a amostra. A varredura é feita por intermédio de um sistema piezoelétrico, com deslocamento em três dimensões, com precisão de décimo de Angstrom. A MFA oferece algumas vantagens para a análise morfológica e estrutural de materiais em relação a MEV, como: maior resolução, imagem em 3 dimensões, não existe necessidade de recobrimento condutivo e permite a quantificação direta da rugosidade da amostra (HERRMANN *et al.*, 1997). Logo, medidas de MFA foram realizadas para obter mais informações sobre a morfologia dos materiais. Os resultados são mostrados na **Figura 20** e **Figura 21**.

Figura 20 - MFA dos polímeros otimizados: a) e b) imagens bidimensionais do MIP e NIP respectivamente, c) e d) imagens tridimensionais do MIP e NIP respectivamente.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Figura 21 - Diagrama de rugosidade de partículas: a) MIP, b) NIP.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

A imagens apresentadas na **Figura 20** corroboram com as informações de MEV, mostrando que as partículas do NIP se configuram de forma mais aglomeradas que as do MIP, alcançando tamanho médio de 1,51 μm e 0,57 μm para NIP e MIP, respectivamente. A diferença de tamanho e distribuição de partículas entre MIP e NIP, pode ser decorrente do processo polimerização ao redor da xilose, onde esse analito atua como centros de nucleação, levando a partículas menores e mais distribuídas. Resultados semelhantes foram alcançado no estudo de Kor e Zarei (2016), onde os autores mostraram que as partículas do NIP eram mais aglomeradas. A **Figura 21** revela uma diferença marcante na rugosidade dos dois polímeros, a qual pode ser expressa em termos da rugosidade média quadrática (RMS) (proporcional a rugosidade do material). Assim, o MIP apresentou maior rugosidade (RMS = 12,30 nm) que o NIP (RMS = 9,18 nm), certamente devido ao maior número de cavidades no MIP.

4.3.5 Método BET (Brunauer-Emmett-Teller)

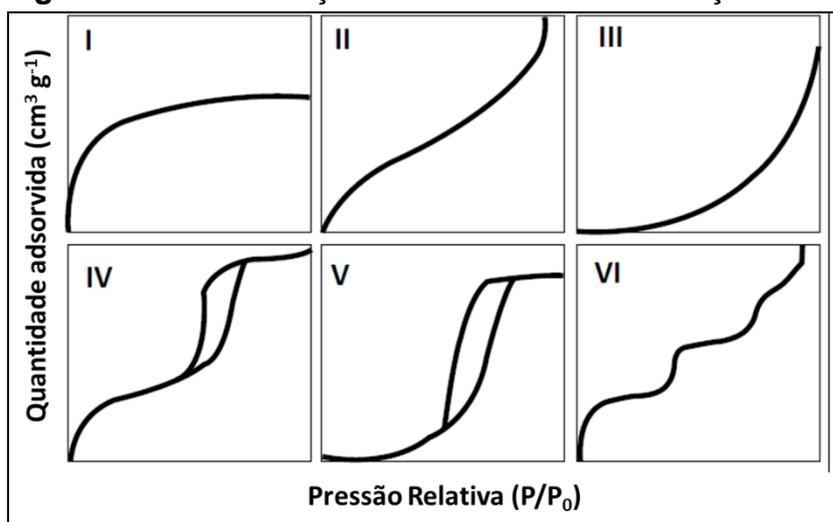
A análise da área superficial de materiais é uma das caracterizações mais importantes em aplicações relacionadas a estruturas porosas, como polímeros e adsorventes industriais. O Método BET também conhecido como Teoria de Adsorção Multimolecular é uma teoria matemática que descreve a adsorção física de um gás na superfície sólida, provendo informações sobre a área superficial específica e volume de poros do material. A sigla BET advém dos nomes dos cientistas Stephen Brunauer, Paul Emmett, and Edward Teller, responsáveis por desenvolver a teoria em 1938.

Essa proposta é uma extensão dos fundamentos do modelo de Langmuir (discutido na seção 4.5), onde a principal diferença entre eles é que no modelo de Langmuir é considerado apenas a adsorção em monocamadas, enquanto o modelo

BET introduz o conceito de adsorção em multicamadas (BARDESTANI; PATIENCE; KALIAGUINE, 2019; HWANG; BARRON, 2011).

Quando o estudo do fenômeno de adsorção é feito com o objetivo de se obter informações sobre a área específica e a estrutura porosa de um sólido, a construção de uma isoterma de adsorção é de fundamental importância, pois sua forma revela informações sobre as características do material. As isotermas normalmente são obtidas por adsorção não específica com nitrogênio, cujo objetivo é expressar a quantidade de gás adsorvido pelo seu volume V em condição padrão de temperatura e pressão (0 °C e 760 Torr), enquanto que a pressão é expressa pela pressão relativa P/P_0 (NASCIMENTO *et al.*, 2014; TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2001). As isotermas de fisissorção de nitrogênio são categorizadas em seis tipos, **Figura 22**.

Figura 22 - Classificação das isotermas de adsorção de N_2 .



Fonte: Adaptado de (NASCIMENTO *et al.*, 2014)

A isoterma do tipo I é considerada como pseudo-Langmuir porque descreve a adsorção em monocamada, característica de sólidos com microporosidade. A isoterma do tipo II é a mais comumente obtida pela técnica BET e ocorre quando a constante “ c ” da Equação 7 é maior que 1. Materiais não porosos e macroporosos produzem isotermas do tipo II (isotermas reversíveis), onde as moléculas de N_2 são adsorvidas em mono/multicamadas sem restrição. As isotermas do tipo IV surgem de sólidos com micro e mesoporos, onde as interações entre as moléculas de gás e a superfície do mesoporo adsorvente levam à condensação capilar. Uma isoterma tipo III é obtida quando $c < 1$ e mostra a formação de multicamadas. As isotermas do tipo III e V são características de sistemas onde as moléculas do adsorvato apresentam

maior interação entre si do que com o sólido. Estes dois últimos tipos não são de interesse para a análise da estrutura porosa. A isoterma do tipo VI é obtida através da adsorção do gás por um sólido não poroso de superfície quase uniforme, o que representa um caso muito raro entre os materiais mais comuns (BARDESTANI; PATIENCE; KALIAGUINE, 2019; TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2001).

Com base nas considerações assumidas, o modelo de múltiplas camadas admite várias equações para determinação de parâmetros de superfície de materiais. Uma forma geral da equação de BET para representação de isotermas experimentais pode ser expressa conforme a Equação 7.

$$\frac{P}{V(P_0 - P)} = \frac{1}{V_m c} + \left[\frac{(c-1)}{V_m c} \right] \frac{P}{P_0} \quad (7)$$

$$c = e^{[Q_1 - Q_L/RT]} \quad (8)$$

Onde:

P e P_0 = pressões de vapor reais e saturadas do adsorvato

V e V_m = volume de gás adsorvido e volume da monocamada

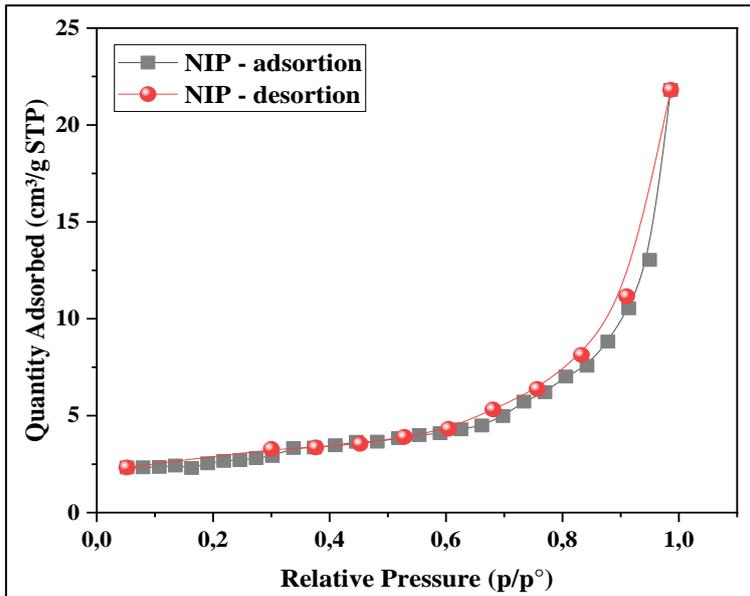
Q_1 e Q_L calor de adsorção da primeira camada e camadas superiores

c = constante BET, expressa a diferença no calor de adsorção da primeira e segunda camadas ou superiores

O gráfico de $P/[V(P_0 - P)]$ versus P/P_0 dá origem a uma reta de coeficiente angular igual a $(c - 1)/V_m c$ e coeficiente linear igual a $1/V_m c$, os quais são usados para determinar o volume de poros do material. Essa expressão pode descrever isotermas dos tipos I, II e III, dependendo da magnitude da constante c . Se c apresentar um valor maior que 2, a Equação 7 dará origem a uma curva com o formato da isoterma do tipo II. Quanto maior for o valor de c , mais pronunciada será a curvatura na primeira região da curva. À medida que c assume valores menores que 2, mas ainda positivos, a curva começa a assumir o formato da isoterma do tipo III, onde não se percebe mais o ponto de inflexão.

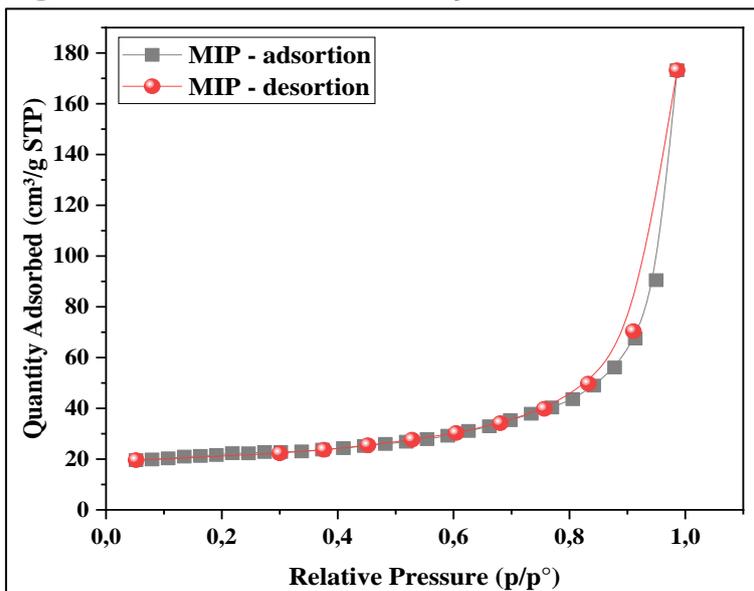
Sabendo disso, o MIP e NIP foram avaliados pelo método BET para determinação do tipo de isoterma, volume de poros e área superficial. As isotermas experimentais alcançadas são representadas na **Figura 23** e **Figura 24**.

Figura 23 - Isotermas de adsorção de N₂ do NIP otimizado.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Figura 24 - Isotermas de adsorção de N₂ do MIP otimizado



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

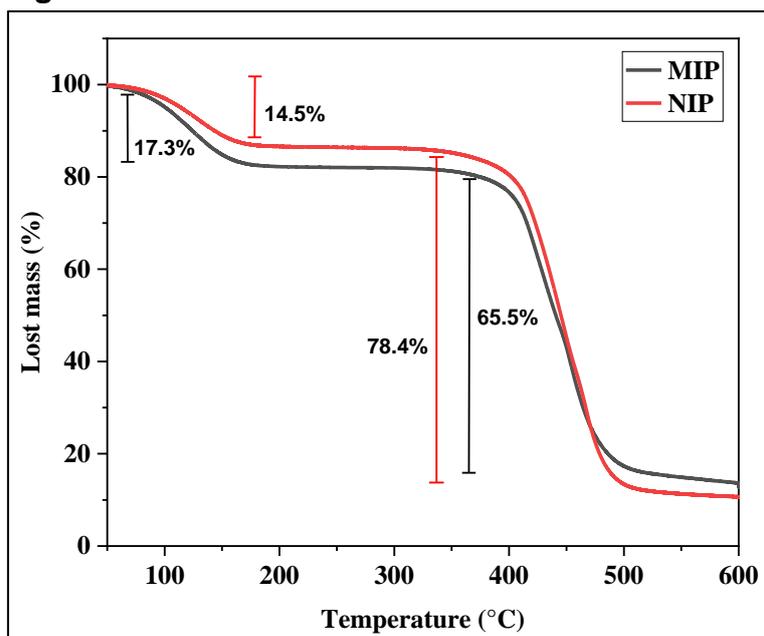
Como observado nas figuras acima, um perfil similar de isoterma do tipo II é evidenciado no MIP e NIP, no entanto, a quantidade de adsorção desses materiais diferem muito devido a área superficial obtida, encontrando valores de 8.7 m²/g e 69.4 m²/g para NIP e MIP, respectivamente. Os valores de volume de poros foram obtidos pelo método BJH (Barret, Joyner e Halenda): 0,03 cm³/g e 0,26 cm³/g para NIP e MIP, respectivamente. Esses valores indicam que o MIP possui maiores sítios ativos para

adsorção, possivelmente devido às cavidades impressas do polímero que se desenvolveram durante o processo de síntese.

4.3.6 Análise Termogravimétrica (TGA)

Termogravimetria ou Análise Termogravimétrica é uma técnica na qual a massa de uma amostra é medida em função da temperatura. O gráfico resultante dessa medida chamado de curva termogravimétrica, fornece informações sobre a estabilidade térmica do material, composição química inicial da amostra, compostos intermediários formados durante o aquecimento e a composição de resíduos se houver. Logo, nesse estudo empregou-se a TGA para obter informações sobre a estabilidade térmica do polímero e verificar as diferenças entre MIP e NIP, conforme mostrado nos resultados a seguir.

Figura 25 - Curvas TG do MIP e NIP otimizados.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Os resultados demonstraram um perfil semelhante nas curvas TG do MIP e NIP, o que já era esperado por serem materiais sintetizados nas mesmas condições. As pequenas diferenças na perda de massa desses materiais podem ser justificadas com base nos resultados anteriores, onde foi comprovado que esses materiais tem a mesma composição química, mas apresentam porosidade e área superficial diferentes. Diante disso, já é conhecido que o tamanho de partículas, densidade e compactação da amostra podem provocar modificações nas curvas TG (IONASHIRO;

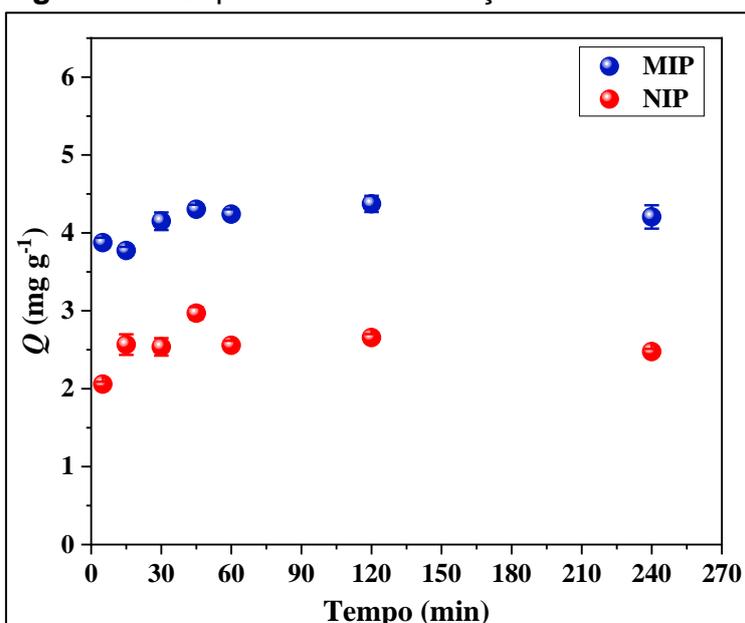
CAIRES; GOMES, 2005). Podemos afirmar por tanto, que as diferenças observadas na **Figura 25** são devido ao efeito de impressão molecular no polímero (MIP).

A primeira região da curva TG que mostra o decréscimo de massa próximo a 100 °C pode ser atribuída a evaporação de água e gases adsorvidos na superfície dos polímeros, onde foi observado maior diminuição na massa do MIP provavelmente devido a maior porosidade do material. Ambos os polímeros se mostraram estáveis entre 180 e 340 °C, não apresentando perdas de massa nessa faixa de temperatura. O maior decréscimo de massa foi atingido entre 370 e 500 °C, onde ocorre a decomposição dos polímeros devido a combustão de matéria orgânica. Resultados de TGA similares foram alcançados em outros estudos de polímeros com o mesmo monômero estrutural (ELWAKEEL *et al.*, 2016; ISMAEL *et al.*, 2020; ZHAO *et al.*, 2008).

4.4 Estudo Cinético

A capacidade de adsorção do polímero Q foi avaliada em função do tempo de homogeneização da mistura entre o adsorvente e a solução de xilose para determinar o tempo necessário para adsorção atingir o equilíbrio. Os resultados obtidos são representados na **Figura 26**.

Figura 26 - Capacidade de adsorção Q do MIP e NIP em função do tempo.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Conforme observado, após 30 minutos de homogeneização houve pouca mudança nos valores de Q , por tanto inferiu-se que 30 minutos é tempo suficiente para atingir a capacidade de adsorção de equilíbrio Q_e . Assim, dessa etapa em diante os novos ensaios foram realizados com homogeneização de 30 minutos.

A partir dos valores de Q_e obtidos em cada tempo de homogeneização, pode-se determinar a ordem cinética do processo de adsorção. Vários modelos cinéticos lineares podem ser utilizados para determinar o mecanismo regulador de adsorção, no entanto os modelos mais comuns são os de pseudo-primeira ordem e de pseudo-segunda ordem. Logo, para saber qual desses dois modelos cinéticos se adequa melhor aos resultados desse estudo, foi feito o ajuste linear para cada modelo de acordo com as equações 6 e 7.

Modelo de pseudo-primeira ordem

$$\ln(Q_e - Q_t) = \ln Q_e - k_1 t \quad (9)$$

Modelo de pseudo-segunda ordem

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{t}{Q_e} \quad (10)$$

Onde:

k_1 e k_2 = constantes da taxa de adsorção de pseudo-primeira ordem (min^{-1}) e pseudo-segunda ordem ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$), respectivamente.

Q_e e Q_t = quantidades adsorvidas de analito por grama de adsorvente (mg g^{-1}) no equilíbrio e no tempo t , respectivamente.

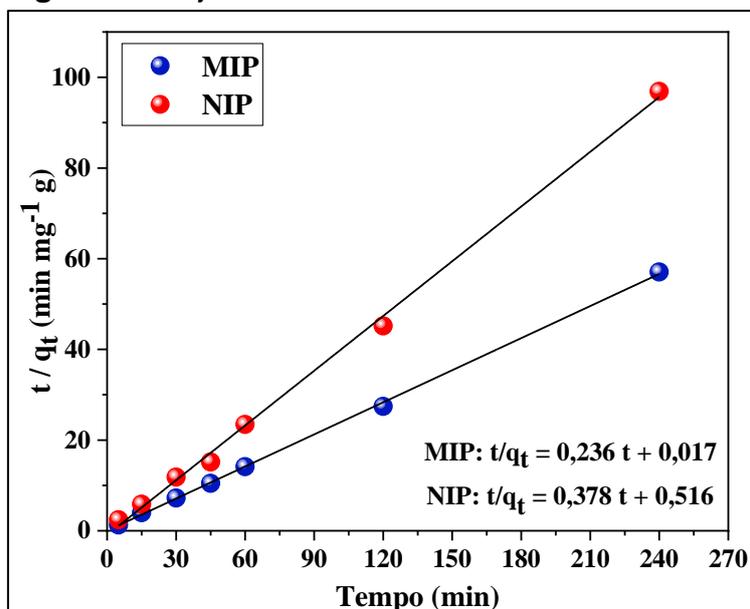
Tabela 9 - Parâmetros obtidos do ajuste linear para o modelo cinético de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.

Polímero	Modelo	Equação	R ²
MIP	Pseudo-primeira ordem	$y = - 0,032 x - 1,323$	0,115
	Pseudo-segunda ordem	$y = 0,236 x + 0,017$	0,999
NIP	Pseudo-primeira ordem	$y = - 0,001 x - 0,684$	0,066
	Pseudo-segunda ordem	$y = 0,378 x + 0,516$	0,995

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Os valores de R^2 da **Tabela 9** apontam que os resultados se ajustaram melhor ao modelo de pseudo-segunda ordem. O gráfico de t/Q_t vs t referente ao modelo com melhor ajuste é mostrado na **Figura 27**.

Figura 27 - Ajuste linear referente ao modelo cinético de pseudo-segunda ordem.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Substituindo os valores do coeficiente angular e linear dessas curvas na Equação 10, é possível calcular os parâmetros Q_e e k_2 para a cinética de adsorção do MIP e do NIP.

Tabela 10 - Constantes calculadas pelo modelo cinético de pseudo-segunda ordem.

Polímero	k_2 (g mg ⁻¹ min ⁻¹)	Q_e (mg g ⁻¹)
MIP	3,25	4,24
NIP	0,28	2,65

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

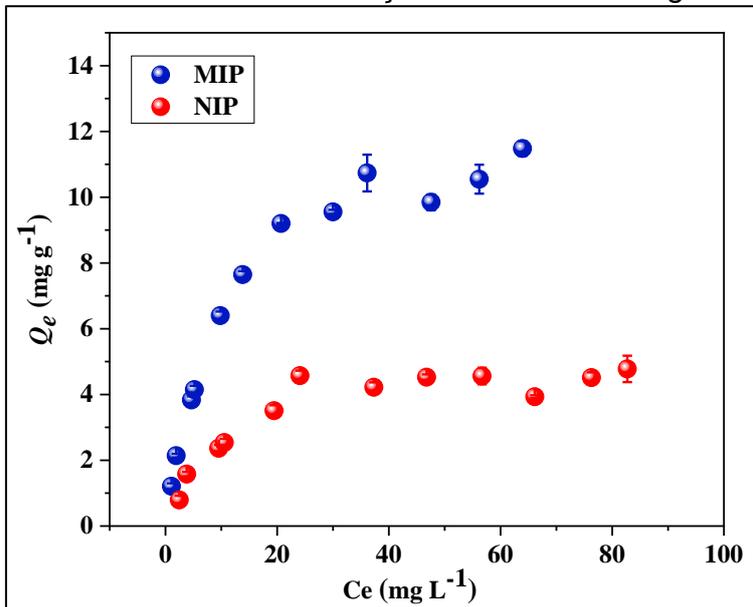
Comparando os valores calculados de Q_e com os valores de Q_e experimentais no tempo de 30 min ($Q_e^{\text{MIP}} = 4,15 \text{ mg g}^{-1}$ e $Q_e^{\text{NIP}} = 2,54 \text{ mg g}^{-1}$), podemos observar que houve pouca diferença, corroborando com a confirmação do modelo cinético. Os valores de Q_e obtidos nessa etapa também foram similares aos resultados de Q_e da etapa de otimização dos polímeros listados na **Tabela 8**, onde obteve-se valores experimentais médios de Q_e iguais a 4,65 e 2,38 mg g⁻¹ do MIP e NIP respectivamente.

A maior taxa de adsorção do MIP em relação ao NIP foi evidenciada pelos resultados de k_2 , indicando que a maior afinidade de ligação do analito ao MIP.

4.5 Isotermas de adsorção

Após o estudo cinético, investigou-se a capacidade adsorptiva dos polímeros em função da concentração de analito. Dessa forma, pode-se construir isotermas de adsorção para extrair informações sobre as propriedades de superfície do adsorvente e os processos físico-químicos envolvidos na adsorção. O termo “isoterma de adsorção” é usado para descrever gráficos de Q_e vs C_e e está relacionado ao fato de os ensaios serem realizados a temperatura constante. Nesse caso os ensaios foram realizados a temperatura ambiente. As isotermas de adsorção foram construídas utilizando MIP e NIP como adsorventes, partindo de concentrações iniciais do adsorvato (xilose) de 5 mg L^{-1} a 100 mg L^{-1} . Os dados alcançados são mostrados na **Figura 28**.

Figura 28 - Isotermas de adsorção de 5 mg de MIP e NIP com solução de xilose em ACN variando a concentração entre 5 e 100 mg L^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Existem diversos modelos teóricos de adsorção para o ajuste de valores experimentais, porém os modelos de Langmuir e Freundlich são os mais comuns para esse tipo de estudo, pois o tratamento de dados é simples e usualmente consegue descrever bem o comportamento dos resultados experimentais. Por esse motivo,

nesse estudo foi feito o ajuste linear das isotermas de Langmuir e Freundlich. As equações e os respectivos resultados de ajustes são mostrados na **Tabela 11**:

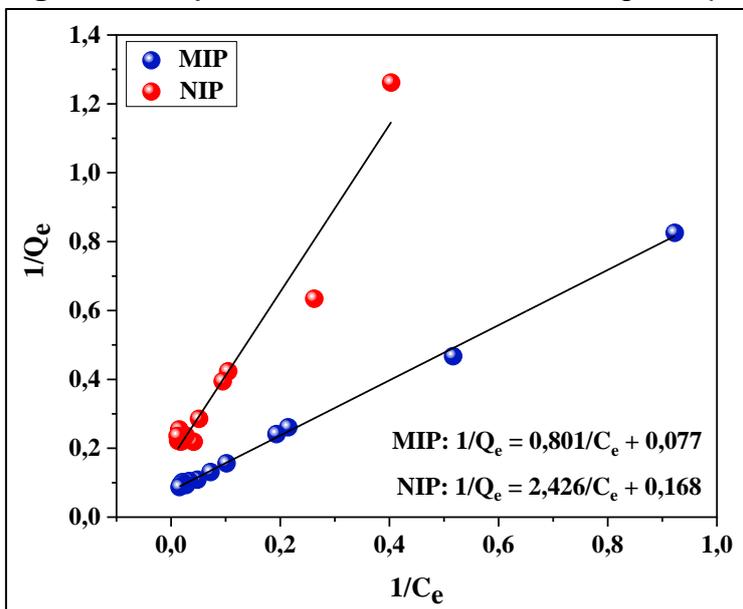
Tabela 11 - Modelos teóricos de adsorção de Langmuir e Freundlich.

Modelo	Equação	Forma linearizada	Material	R ²
Langmuir	$Q = \frac{Q_{max}K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	$\frac{1}{Q_e} = \frac{1}{Q_{max}} + \frac{1}{K_L Q_{max} C_e}$	MIP	0,998
			NIP	0,951
Freundlich	$Q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}}$	$\log Q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e$	MIP	0,940
			NIP	0,843

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Os valores de R² apontaram que os resultados se ajustaram melhor ao modelo de Langmuir, especialmente para o MIP que é o material de maior interesse. Os gráficos da forma linearizada do modelo de Langmuir podem são representados na **Figura 29**.

Figura 29 - Ajuste linear do modelo de Langmuir para MIP e NIP.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

O modelo de Langmuir prediz que existe um número definido de sítios com energia equivalente, sendo que cada sítio pode comportar apenas uma molécula e a adsorção ocorre em monocamadas. Além disso, o modelo nos informa que as taxas de adsorção e dessorção são iguais no equilíbrio de adsorção, definido como um estado de equilíbrio dinâmico (AL-GHOUTI; DA, 2020; NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Através do coeficiente linear e angular da curva $1/Q_e$ versus $1/C_e$ representada na **Figura 29**, foi calculado os parâmetros de Langmuir K_L e Q_{max} , obtendo $K_L = 0,10$ L mg^{-1} e $Q_{max} = 12,50$ mg g^{-1} para o MIP e, $K_L = 0,07$ e $Q_{max} = 5,88$ mg g^{-1} para o NIP. Analisando esses dados, verifica-se que os valores de Q_{max} calculado pela isoterma de Langmuir foram relativamente próximos dos Q_{max} obtidos experimentalmente ($Q_{max}^{MIP} = 11,48$ mg g^{-1} e $Q_{max}^{NIP} = 4,57$ mg g^{-1}). Os resultados de K_L podem ser usados para determinar o grau de desenvolvimento de adsorção expresso pelo fator de separação (R_L), o qual é calculado pela Equação 9:

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (11)$$

O fator R_L pode assumir diferentes valores de acordo com o favorecimento da adsorção: favorável quando $0 < R_L < 1$, desfavorável quando $R_L > 1$, linear quando $R_L = 1$ e irreversível quando $R_L = 0$. Assim, quanto mais o valor de R_L se aproxima de 0, mais favorável é a adsorção. Os valores de R_L e FI foram calculados para as concentrações a partir de 50 mg L^{-1} da isoterma.

Tabela 12 - Fatores de separação e impressão em função da concentração de analito.

C_0 (mg L^{-1})	50	60	70	80	90	100
R_L MIP	0,17	0,14	0,12	0,11	0,1	0,09
R_L NIP	0,22	0,19	0,17	0,15	0,14	0,12
IF	3,93	3,29	3,69	3,48	3,17	3,10

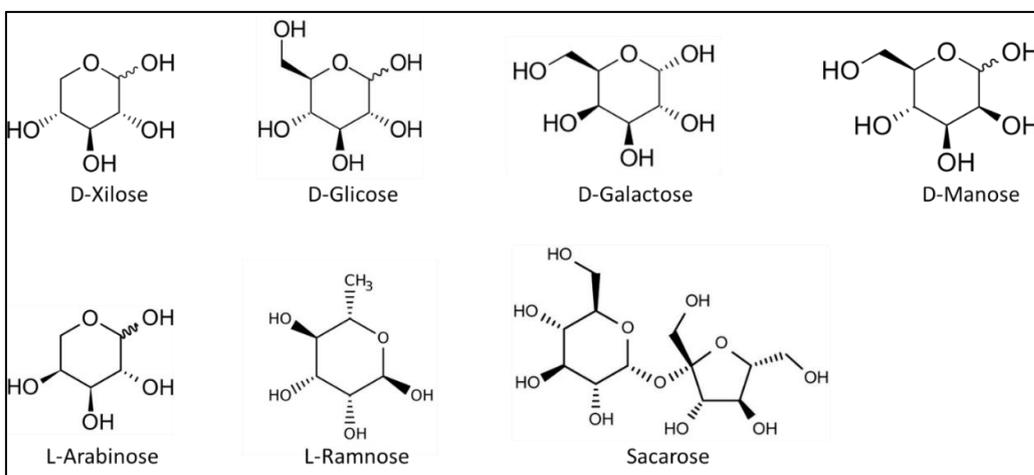
Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Como pode ser observado, os valores de R_L do MIP foram menores que do NIP, confirmando que a adsorção do analito é mais favorável no MIP. Em relação aos FI , o melhor resultado foi alcançado a partir de uma solução de xilose 50 mg L^{-1} , por isso, os demais estudos de adsorção foram realizados nessa concentração de adsorvato.

4.6 Estudo de seletividade

O estudo de seletividade foi feito para moléculas com estruturas similares de xilose e que podem estar presente em uma amostra real de biomassa vegetal. As estruturas das moléculas analisadas são mostradas na **Figura 30**.

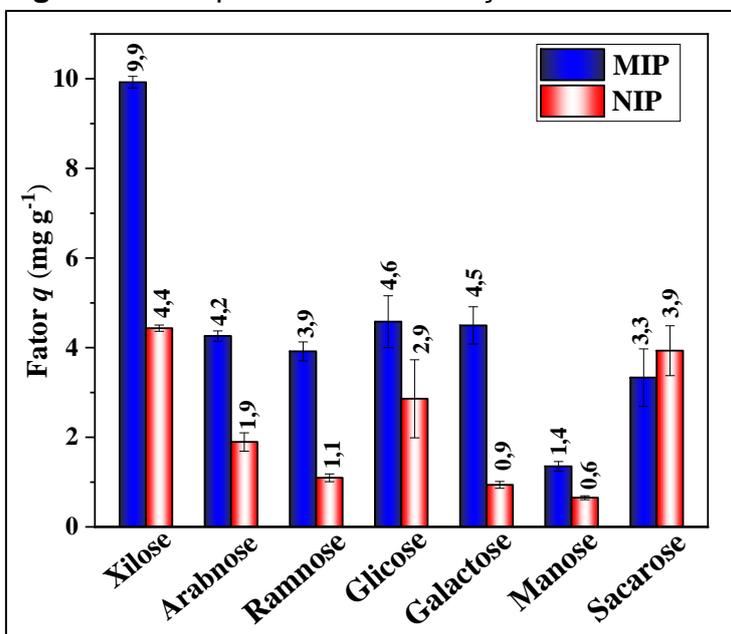
Figura 30 - Estrutura molecular da xilose e de possíveis interferentes utilizados nos testes de seletividade.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Nos ensaios de seletividade, os polímeros foram homogeneizados com soluções de cada molécula avaliada (cada solução contendo somente um composto). Os resultados de Q_e obtidos são representados no gráfico de barras da **Figura 31**.

Figura 31 - Capacidade de adsorção do MIP e NIP para diferentes sacarídeos.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Os resultados evidenciaram que a afinidade de ligação do MIP é maior para a xilose do que para as demais moléculas analisadas, o que indica a seletividade do MIP para o analito que foi usado na impressão molecular. Os termos utilizados para

expressar essa afinidade são descritos pelo Coeficiente de Seletividade (K) e Coeficiente de Seletividade Relativo (K').

$$K = \frac{K_d(\text{analito})}{K_d(\text{análogo})} \quad (12)$$

$$K' = \frac{K(\text{MIP})}{K(\text{NIP})} \quad (13)$$

Valores de K maiores que um, indicam que o MIP é capaz de diferenciar as moléculas análogas da molécula molde no processo de adsorção, logo, o material é seletivo. A seletividade relativa representada por K', demonstra a magnitude da seletividade do MIP em relação ao NIP e, por tanto, valores maiores que um, indicam que o sucesso da impressão molecular reflete na seletividade do polímero (AZIZI; BOTTARO, 2020; NDUNDA, 2020). Os valores de K_d, K e K' foram calculados a partir da média obtida da triplicata de Q_e e C_e.

Tabela 13 - Constante de distribuição (K_d) e constantes de seletividade (K e K') para cada interferente.

Sacarídeo	K _d ^{MIP}	K _d ^{NIP}	K ^{MIP}	K ^{NIP}	K'
Arabnose	0,19	0,06	2,35	1,81	1,30
Ramnose	0,13	0,03	3,52	4,18	0,84
Glicose	0,18	0,09	2,51	1,25	2,01
Galactose	0,18	0,03	2,49	4,48	0,56
Manose	0,03	0,01	14,63	8,16	1,79
Sacarose	0,09	0,11	4,93	1,01	4,88

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

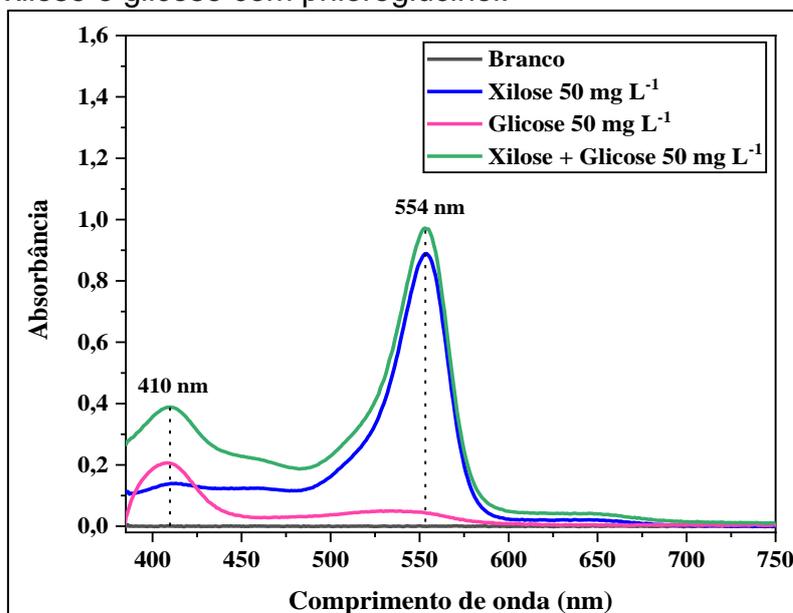
Conforme observado na **Tabela 13**, todos os valores de seletividade (K^{MIP}) foram maiores que um, indicando que os polímeros são seletivos. Os valores de seletividade relativa também foram bastante promissores, apresentado resultados menores que um apenas para a L-ramnose e D-galactose. Nesse caso, isso ocorreu porque a razão de adsorção (Q_e^{MIP}/Q_e^{NIP}) foi maior para esses açúcares do que para xilose. Apesar disso, a capacidade de adsorção Q_e do MIP em relação a xilose foi aproximadamente o dobro dos valores de Q_e do MIP para ramnose e galactose. Logo, podemos inferir que mesmo com K' < 1, o MIP não teve tantas cavidades preenchidas

por essas moléculas análogas quanto pelo analito, demonstrando o maior potencial do material se ligar à xilose. Vale ressaltar que, os melhores resultados de seletividade da sacarose sugerem a capacidade do MIP reconhecer a diferença entre um monossacarídeo e um dissacarídeo.

4.7 Avaliação de interferentes

Nos ensaios de interferentes, avaliou-se a preferência de ligação do MIP em soluções contendo o analito com moléculas análogas. Assim, os polímeros foram homogeneizados com uma solução de dois monossacarídeos na concentração de 50 mg L⁻¹, sendo a xilose mais uma hexose (glicose, galactose ou manose). Os ensaios foram realizados apenas com esses interferentes devido ao método de quantificação espectrofotométrico disponível, o qual permite a quantificação dos açúcares individuais a partir de uma mistura de pentose com hexose. A análise dos resultados dessa etapa foi feita pela Lei de Lambert-Beer, considerando as propriedades aditivas das absorvâncias. Essa propriedade pode ser observada na **Figura 32**, onde é mostrado o espectro de xilose e glicose individual e o espectro de uma mistura dos dois monossacarídeos.

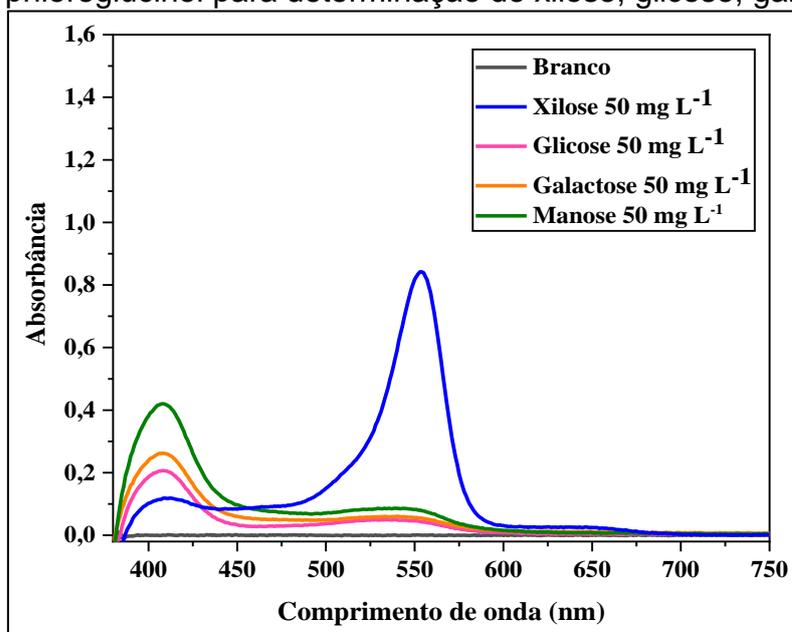
Figura 32 - Demonstração da propriedade aditiva das absorvâncias na análise de xilose e glicose com phloroglucinol.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

A **Figura 33** elucida as diferenças dos espectros de absorção gerados na análise de pentose (xilose) e hexoses (glicose, galactose e manose), na mesma concentração com phloroglucinol.

Figura 33 - Espectros de absorbância gerados no método colorimétrico com phloroglucinol para determinação de xilose, glicose, galactose e manose.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Desse modo, a primeira parte da análise consistiu na construção de curvas de calibração do analito e de cada interferente em dois comprimentos de onda, um em 410 nm referente a absorbância do interferente (hexose) e outro em 554 nm referente a absorbância do analito (pentose). Os dados obtidos são mostrados na tabela a seguir.

Tabela 14 - Dados obtidos das curvas de calibração de cada açúcar individual.

Sacarídeo	Abs (nm)	Coef. angular	Coef. linear	R ²
Xilose	410	0,003	0,036	0,993
	554	0,018	0,107	0,997
Glicose	410	0,004	-0,019	0,998
	554	0,001	-0,002	0,983
Galactose	410	0,003	0,016	0,999
	554	0,002	0,014	0,987
Manose	410	0,008	0,068	0,995
	554	0,002	0,016	0,985

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

De acordo com (HARRIS, Daniel C, 2010), o coeficiente angular da curva de calibração de cada açúcar individual pode ser admitido como o coeficiente de absorvidade molar (ϵ) do mesmo composto em uma mistura. Desse modo, as equações usadas para análise das misturas são listadas abaixo de acordo com o interferente utilizado.

- **XILOSE-GLICOSE:**

$$Abs_{410}^{mistura} = \epsilon_{410}^{xilose} [xilose] + \epsilon_{410}^{glicose} [glicose] \quad (14)$$

$$Abs_{554}^{mistura} = \epsilon_{554}^{xilose} [xilose] + \epsilon_{554}^{glicose} [glicose] \quad (15)$$

- **XILOSE-GALACTOSE:**

$$Abs_{410}^{mistura} = \epsilon_{410}^{xilose} [xilose] + \epsilon_{410}^{galactose} [galactose] \quad (16)$$

$$Abs_{554}^{mistura} = \epsilon_{554}^{xilose} [xilose] + \epsilon_{554}^{galactose} [galactose] \quad (17)$$

- **XILOSE-MANOSE**

$$Abs_{410}^{mistura} = \epsilon_{410}^{xilose} [xilose] + \epsilon_{410}^{manose} [manose] \quad (18)$$

$$Abs_{554}^{mistura} = \epsilon_{554}^{xilose} [xilose] + \epsilon_{554}^{manose} [manose] \quad (19)$$

Onde:

$Abs_{554}^{mistura}$ = absorbância da mistura em 554 nm.

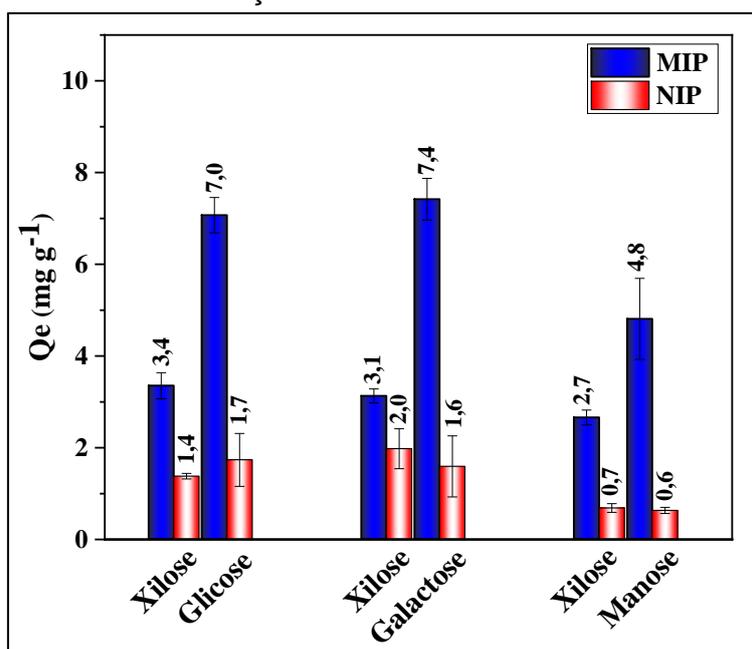
$Abs_{410}^{mistura}$ = absorbância da mistura em 410 nm.

$\epsilon_{554}^{açúcar}$ = coeficientes de absorvidade molar de cada açúcar em 554 nm.

$\epsilon_{410}^{açúcar}$ = coeficientes de absorvidade molar de cada açúcar em 410 nm.

Substituindo os valores de absorvância da mistura em 410 nm e 554 nm, antes e após a homogeneização com os polímeros nos ensaios de adsorção, rearranjou-se as Equações 14 a 19 para determinar as concentrações de cada monossacarídeo. A partir das concentrações encontradas, calculou-se o fator Q_e para cada molécula na mistura, os quais são indicados na **Figura 34**.

Figura 34 - Capacidade de adsorção do MIP e NIP para cada sacarídeo em uma mistura de dois açúcares.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Diferente dos resultados obtidos nos ensaios de seletividade para cada açúcar individual, aqui a capacidade de adsorção do MIP foi maior para os interferentes. Isso indica que o efeito desses interferentes é considerável e diminui o Q_e do analito pelo MIP em uma mistura com hexoses. Nesse estudo, justificamos esse comportamento por se tratar de uma amostra complexa, onde pode ocorrer diversas interações entre os açúcares analisados, a mistura de solvente (ACN e água) e o material adsorvente. Além disso, a estrutura dos interferentes são muito semelhantes à estrutura do analito, apresentando a principal diferença de apenas um grupo $-CH_2OH$ ligado ao anel piranosídico. Assim, quando há uma competição pelos sítios de ligação do MIP, a hexose pode ser favorecida pela maior disposição de grupos $-OH$ para formar ligações de hidrogênio com o MIP.

4.8 Reutilização do MIP

Com o objetivo de verificar se o MIP otimizado poderia ser utilizado mais de uma vez na adsorção de xilose, o MIP com xilose adsorvida foi lavado e empregado na religação desse analito por três vezes.

Tabela 15 - Dados de ensaios de adsorção do MIP reutilizado.

Utilização	%ads ^{MIP}
1° Ensaio	82,66 ± 1,06
2° Ensaio	79,43 ± 1,02
3° Ensaio	78,77 ± 0,47

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Os resultados alcançados revelam que o MIP pode ser lavado facilmente com água e etanol, podendo ser reutilizado ao menos três vezes com menos de 5% de diferença na adsorção de xilose. Não foram realizadas mais repetições de lavagem e ensaio de adsorção, devido a perda de massa do material durante o processo.

4.9 Aplicação em amostras reais

4.9.1 Análise comparativa de xilose com phloroglucinol e CLAE-IR

A amostra real apresenta uma mistura complexa de vários açúcares e outros componentes que podem interferir na análise com phloroglucinol, por isso as soluções também foram analisadas por CLAE-IR. Assim, para saber qual concentração de xilose o método cromatográfico utilizado é capaz de determinar e se esse difere significativamente do método com phloroglucinol, soluções de xilose com diferentes concentrações (triplicatas) foram analisadas pelos dois métodos.

Tabela 16 - Valores médios de concentração obtidos pelos dois métodos de quantificação empregados nas mesmas soluções. *ND = Não determinado.*

Amostra	Phloroglucinol	CLAE-IR	Diferença
1	2,46 ± 0,40	<i>ND</i>	<i>ND</i>
2	4,93 ± 0,17	<i>ND</i>	<i>ND</i>
3	9,93 ± 0,26	8,83 ± 0,17	1,10
4	19,92 ± 1,28	17,80 ± 0,41	2,12
5	40,10 ± 1,53	36,74 ± 0,68	3,36
6	71,51 ± 1,69	66,08 ± 0,97	5,43
7	99,91 ± 0,51	95,91 ± 1,83	4,00

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Como demonstrado na **Tabela 16**, os pontos de concentração de 2 e 5 mg L⁻¹ não foram quantificados pela CLAE-IR, indicando que o método de quantificação de xilose com phloroglucinol proposto para este trabalho, foi mais sensível para essa finalidade. Diante desses experimentos, podemos comparar os dois métodos pelo teste *t student* considerando a diferença obtida de cada ponto de concentração pela seguinte equação:

$$t_{calculado} = \frac{|\bar{d}|}{S_d} \sqrt{n} \quad (20)$$

Onde:

$|\bar{d}|$ = valor absoluto da média das diferenças dos pontos de concentração

S_d = desvio padrão das diferenças dos pontos de concentração

n = número de análises realizadas

Assim, para saber se as diferenças de concentração diferem estatisticamente entre si dentro de um nível de confiança, o valor de $t_{calculado}$ é comparado com um $t_{tabelado}$ com determinado grau de liberdade e normalmente 95% de confiança. Se $t_{calculado} > t_{tabelado}$, a diferença entre os dois métodos é considerada estatisticamente significativa e, não significativa se $t_{calculado} < t_{tabelado}$.

Substituindo os valores da **Tabela 16** na Equação 20, obtemos $t_{calculado} = 4,28$. Para o nível de confiança de 95% com dois graus de liberdade $t_{tabelado} = 4,30$, portanto, $t_{calculado} < t_{tabelado}$, mostrando que há mais de 5% de chance de que os dois conjuntos de resultados estejam “dentro do erro experimental” um do outro (HARRIS, Daniel C, 2010). Concluímos então que, os resultados não são significativamente diferentes.

4.9.2 Bagaço de laranja (BL)

Com a finalidade de ajustar a concentração de xilose da amostra para a faixa de concentração trabalhada nos estudos de adsorção, o hidrolisado de laranja foi analisado por CLAE-IR.

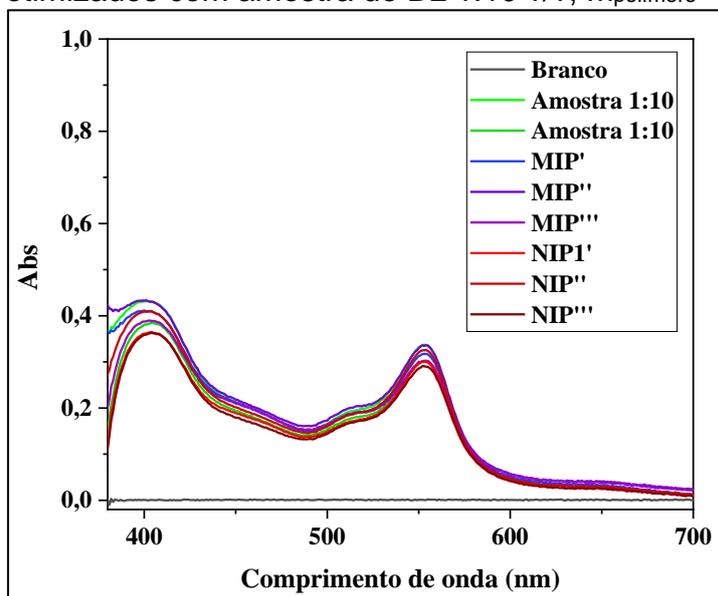
Tabela 17 - Análise do hidrolisado concentrado de BL.

Monossacarídeo	Concentração (g L ⁻¹)
Xilose	0,0889
Glicose	0,3456
Arabinose	0,0445

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

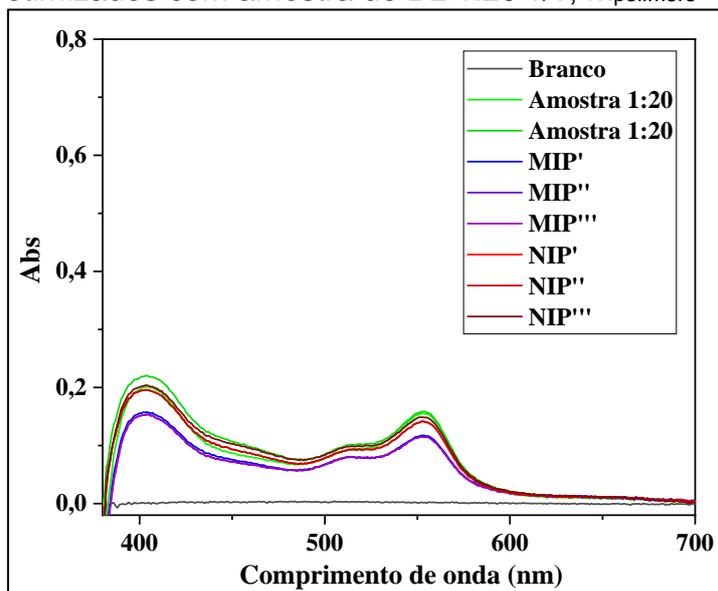
Os resultados mostraram que o hidrolisado possui baixa concentração de xilose, considerando que as amostras foram obtidas em meio aquoso e, por isso, é necessário diluí-la muitas vezes em ACN para ocorrer a adsorção de analito ao MIP.

Além do mais, a concentração de glicose que é um potencial interferente de adsorção, foi quase quatro vezes maior que a de xilose. Contudo, foi realizado testes de adsorção nesse hidrolisado hemicelulósico diluído nas razões: 1:10 amostra:ACN (v/v) e 1:20 amostra:ACN (v/v). Os ensaios foram primeiramente avaliados pelo método colorimétrico, pois é mais simples e rápido em comparação ao CLAE-IR. Os resultados alcançados são apresentados nas imagens a seguir.

Figura 35 - Espectros de absorvância obtidos dos ensaios de adsorção do MIP e NIP otimizados com amostra de BL 1:10 v/v, $m_{\text{polímero}} = 10,0$ mg, $V_{\text{amostra}} = 1,5$ mL.

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Figura 36 - Espectros de absorvância obtidos dos ensaios de adsorção do MIP e NIP otimizados com amostra de BL 1:20 v/v, $m_{\text{polímero}} = 10,0 \text{ mg}$, $V_{\text{amostra}} = 1,5 \text{ mL}$.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Os espectros da amostra 1:10 (v/v) mostram que a intensidade de absorvância em 554 nm não diminuiu após os ensaios, indicando que os polímeros não adsorveram xilose. Na amostra 1:20 (v/v) houve pequena diminuição da absorvância em 554 nm e 410 nm após os ensaios de adsorção, revelando que parte da porção sacarídea ficou retida no MIP. Como esse método colorimétrico é capaz de diferenciar apenas pentose de hexose em uma mistura e envolve cálculos complexos para isso, na amostra real com múltiplas pentoses e hexoses, é importante empregar outro método bem estabelecido para comparação dos resultados. Assim, o ensaio da amostra 1:20 (v/v) foi repetido nas mesmas condições e analisado por CLAE-IR. As concentrações encontradas de cada açúcar são exibidas na **Tabela 18**.

Tabela 18 - Análise cromatográfica do hidrolisado hemicelulósico de BL empregado nos ensaios de adsorção com MIP e NIP: $m_{\text{polímero}} = 20,0 \text{ mg}$, $V_{\text{amostra}} = 3,0 \text{ mL}$. *ND* = Não determinado.

Monossacarídeo	$C_0^{\text{Amostra}} \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$	$C_e^{\text{MIP}} \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$	$C_e^{\text{NIP}} \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$
Xilose	5,95	<i>ND</i>	<i>ND</i>
Glicose	21,36	$12,93 \pm 0,23$	$16,52 \pm 0,76$
Arabinose	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Os resultados mostraram que a quantidade inicial de xilose (C_0) na amostra estava bem próxima do limite de quantificação da técnica (demonstrado na seção 4.9.1) e após o ensaio de adsorção, a concentração de xilose no equilíbrio (C_e) não pôde ser determinada, indicando que devido a fração adsorvida ao polímero, a porção de xilose em solução ficou abaixo do limite de quantificação. A leitura na amostra diluída 1:20 (v/v) também não quantificou Arabinose, pois de acordo com a **Tabela 17**, esse fator de diluição diminuiu sua concentração para aproximadamente 2 mg L^{-1} , a qual está abaixo do LQ do método cromatográfico empregado. Devido à baixa concentração de xilose nessas amostras e alta concentração de glicose, não foi dado continuidade nos estudos de adsorção de xilose do BL.

4.9.3 Palha e bagaço de cana-de-açúcar (PBC)

A primeira etapa de estudo com amostra real, foi caracterizar o hidrolisado hemicelulósico por CLAE-IR para conhecer a concentração de xilose. Os resultados obtidos da amostra concentrada estão representados na **Tabela 19**.

Tabela 19 - Análise do hidrolisado concentrado de PBC.

Monossacarídeo	Concentração (g L^{-1})
Xilose	26,296
Glicose	3,798
Arabinose	3,585

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Os dados da **Tabela 19** mostram que a concentração de xilose no hidrolisado de PBC é consideravelmente maior do que na amostra de BL, além de apresentar concentrações menores de interferentes (Glicose e Arabinose). Logo, foi feito a diluição da amostra em ACN para alcançar a faixa de concentração de equilíbrio das isotermas e favorecer a adsorção de xilose ao MIP. Em seguida, a amostra diluída ($50 \mu\text{L}/25 \text{ mL}$) foi empregada em dois ensaios de adsorção DSPE com MIP e NIP, sendo um para análise com phloroglucinol e outro por CLAE-IR. A **Tabela 20** e a **Figura 37** mostram os resultados do ensaio de adsorção avaliados pelo método colorimétrico.

Tabela 20 - Análise colorimétrica do hidrolisado hemicelulósico de PBC empregado nos ensaios de adsorção com MIP e NIP: $m_{\text{polímero}} = 10,0 \text{ mg}$, $V_{\text{amostra}} = 1,5 \text{ mL}$. *ND* = Não determinado.

Açúcar	C_0 (mg L^{-1})	C_e^{MIP} (mg L^{-1})	C_e^{NIP} (mg L^{-1})	Q_e^{MIP} (mg g^{-1})	Q_e^{NIP} (mg g^{-1})
Xilose	47,75	$6,08 \pm 0,47$	$16,18 \pm 1,06$	$6,25 \pm 0,07$	$4,73 \pm 0,16$
Glicose	8,97	$1,33 \pm 0,12$	$3,71 \pm 1,04$	$1,15 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,16$
Arabinose	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Figura 37 - Soluções do hidrolisado hemicelulósico de PBC empregado no ensaio de adsorção com MIP e NIP otimizados.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

A seguir a **Tabela 21** lista os resultados do ensaio de adsorção com amostra real e analisado pela técnica cromatográfica.

Tabela 21 - Análise cromatográfica do hidrolisado hemicelulósico de PBC empregado nos ensaios de adsorção com MIP e NIP: $m_{\text{polímero}} = 20,0 \text{ mg}$, $V_{\text{amostra}} = 3,0 \text{ mL}$. *ND* = Não determinado.

Açúcar	C_0 (mg L^{-1})	C_e^{MIP} (mg L^{-1})	C_e^{NIP} (mg L^{-1})	Q_e^{MIP} (mg g^{-1})	Q_e^{NIP} (mg g^{-1})
Xilose	46,18	$4,82 \pm 2,78$	$11,95 \pm 2,24$	$6,20 \pm 0,42$	$5,13 \pm 0,34$
Glicose	5,85	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>
Arabinose	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

No ensaio de adsorção analisado através do método colorimétrico, foi utilizado 10,0 mg de polímero e 1,5 mL de amostra, pois essa análise requer apenas 0,4 mL de solução. Já na análise cromatográfica, é necessário um volume maior de amostra

devido a etapa de filtração nos cartuchos Sep-Pak C18 e preenchimento dos vials que são inseridos no cromatógrafo. Logo, para a análise cromatográfica, os ensaios foram realizados usando o dobro de solução e de polímero. A massa de polímero empregada nos ensaios foi escolhida com base na capacidade de adsorção obtida nos estudos anteriores.

O cálculo da concentração de glicose pelo método colorimétrico foi feito pelo mesmo procedimento descrito nos estudos de interferentes, onde é considerado as propriedades aditivas das absorvâncias. A concentração de arabinose não pôde ser determinada pelo método colorimétrico, porque esse açúcar assim como a xilose, é uma pentose que sofre a reação descrita na **Figura 9**, formando o mesmo composto com máximo de absorvância em 554 nm. Apesar da arabinose ser um interferente na quantificação de xilose por esse método, nessas condições a concentração de arabinose é muito menor que a concentração de xilose e por isso, ela foi desconsiderada. Na cromatografia, novamente alguns dados de concentração não foram determinados devido à baixa concentração dessas moléculas em solução.

A partir das informações da **Tabela 20** e **Tabela 21**, calculou-se a porcentagem média de adsorção (%ads) de xilose em cada análise conforme representado na **Tabela 22**.

Tabela 22 - Porcentagem de adsorção de xilose obtida pela análise cromatográfica e colorimétrica.

Açúcar	Phloroglucinol		CLAE-IR	
	%ads ^{MIP}	%ads ^{NIP}	%ads ^{MIP}	%ads ^{NIP}
Xilose	87,26 ± 0,98	66,12 ± 2,21	89,56 ± 6,03	74,13 ± 4,86
Glicose	85,14 ± 1,37	65,29 ± 0,91	<i>ND</i>	<i>ND</i>

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Analisando os valores da **Tabela 22**, verifica-se alta porcentagem de adsorção de xilose pelo MIP, mostrando o potencial desse adsorvente para separação de xilose do hidrolisado hemicelulósico de PBC. No método colorimétrico com phloroglucinol, pode-se observar que o MIP apresentou menor porcentagem de adsorção de glicose do que de xilose, indicando a seletividade do material. A similaridade dos resultados da análise espectrofotométrica com a análise cromatográfica, demonstra que o método com phloroglucinol foi eficaz na determinação simultânea de xilose e glicose em amostra real.

Após os ensaios de adsorção, os mesmos materiais (MIP e NIP) foram separados da amostra e empregados em testes de dessorção para extração de xilose. Nesses testes, 3,0 mL de água pura (Milli-Q) foram adicionados nos tubos contendo o polímero com xilose adsorvida e, consecutivamente, essa mistura foi homogeneizada por 1 hora. Por fim, os tubos foram centrifugados para separação do polímero e análise do sobrenadante. O volume de 3,0 mL de água foi empregado buscando manter a mesma proporção polímero/solvente dos ensaios de adsorção e, usando um solvente de dessorção ambientalmente “amigável” com alta capacidade de solvatação de xilose. Os resultados de recuperação da xilose adsorvida são listados na **Tabela 23**.

Tabela 23 - Determinação cromatográfica dos açúcares nos ensaios de recuperação em água pura.

Acúcar	C_e^{MIP} (mg L ⁻¹)	C_e^{NIP} (mg L ⁻¹)	%rec ^{MIP}	%rec ^{NIP}
Xilose	32,26 ± 3,88	29,18 ± 1,15	78,00 ± 7,65	85,23 ± 3,37
Glicose	ND	ND	ND	ND

Fonte: Elaborado pelo Autor (2023).

Diante desses dados, podemos deduzir que os valores de recuperação de xilose foram bastante promissores, demonstrando grande potencial para separação de xilose em água. A maior porcentagem de dessorção no ensaio realizado com o NIP, demonstra que a xilose está ligada mais firmemente ao MIP devido a formação das cavidades seletivas.

5 CONCLUSÃO

O desenvolvimento de um MIP por precipitação com interação não-covalente com a xilose foi realizado com êxito. O MIP otimizado foi sintetizado com reagentes de baixa toxicidade quando comparado a outros materiais similares da literatura. Na etapa de otimização da síntese do polímero, foi evidenciado que o uso de um solvente menos polar e aprótico favoreceu a impressão molecular da xilose. A Teoria do Funcional de Densidade foi eficaz na escolha do monômero funcional desse estudo. As caracterizações físico-químicas apontaram diferenças entre as propriedades de superfície do MIP e NIP, como área superficial, tamanho de poro e tamanho de partículas, atribuídas ao sucesso da impressão molecular. O hidrolisado hemicelulósico da cana-de-açúcar obtido pelo tratamento com ácido diluído, foi mais viável para esse estudo, devido maior concentração de xilose em relação ao bagaço de laranja. Por fim, o MIP otimizado apresentou resultados promissores na separação seletiva de xilose dos resíduos lignocelulósicos da cana-de-açúcar, oferecendo uma opção de recuperação de xilose rápida, eficaz e amigável ambientalmente.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Esta dissertação de mestrado mostrou que os resultados apresentados nesse trabalho foram bastante promissores e possui espaço para mais estudos e otimização das condições testadas. Uma das dificuldades encontradas foi nos estudos de adsorção com uma mistura de açúcares, onde o MIP se ligou preferencialmente a hexoses. Para solucionar esse problema, acreditamos que estudos com novos monômeros funcionais ou uma combinação entre eles podem ser realizados, a fim de aumentar a seletividade do MIP frente uma mistura.

A síntese de MIP core-shell com diferentes tipos de núcleos ou do MIP oco (polímero com o núcleo da partícula removido), são abordagens que podem ser interessantes para aumentar capacidade adsorptiva do polímero e propor novas aplicações.

Diante dos resultados alcançados, foi evidenciado que o MIP tem potencial para aplicação em outros tipos de amostras, oferecendo possibilidade de testes com outras técnicas de separação, tais como a SPE (Solid Phase Extraction) e DPX (Disposable Pipette Extraction). Investigações importantes a serem realizadas são outros métodos de hidrólise dos resíduos lignocelulósicos (pois interfere diretamente na qualidade da amostra) e a otimização de dessorção de xilose do polímero, onde pode ser testado novos solventes e diferentes tempos de homogeneização.

Por fim, propomos que em estudos futuros, a quantificação de açúcares na amostra real seja feita por um método cromatográfico com menor limite de quantificação e coluna cromatográfica apropriada para determinar todos os sacarídeos presentes na amostra.

REFERÊNCIAS

- AL-GHOUTI, Mohammad A; DA, Dana A. Guidelines for the use and interpretation of adsorption isotherm models : A review. **Journal of Hazardous Materials**. v. 393, p. 122383, 2020.
- ALEXANDER, Sheeba *et al.* Highly sensitive and selective non enzymatic electrochemical glucose sensors based on Graphene Oxide-Molecular Imprinted Polymer. **Materials Science and Engineering C**. v. 78, p. 124–129, 2017.
- ALMEIDA, S. G. C. *et al.* Furfural production through two bioconversion routes: experimental optimization and process simulation. **Waste and Biomass Valorization**. v. 13, n. 9, p. 4013–4025, 2022.
- ANASTASSIADES, MICHELANGELO; LEHOTAY, STEVEN J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC international**. v. 86, n. 02, p. 412–431, 2003.
- AZEVEDO, Afonso R G De *et al.* Possibilities for the application of agro-industrial wastes in cementitious materials : A brief review of the Brazilian perspective. **Cleaner Materials**. v. 3, p. 100040, 2022.
- AZIZI, Ali; BOTTARO, Christina S. A critical review of molecularly imprinted polymers for the analysis of organic pollutants in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**. v. 1614, p. 460603, 2020.
- BARDESTANI, Raouf; PATIENCE, Gregory S; KALIAGUINE, Serge. Experimental methods in chemical engineering : specific surface area and pore size distribution measurements — BET , BJG, and DFT. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**. n. August, p. 2781–2791, 2019.
- BRETHAUER, Simone; SHAHAB, Robert L; STUDER, Michael H. Impacts of biofilms on the conversion of cellulose. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 1, p. 5201–5212, 2020.
- BRIENZO, Michel; CARVALHO, Walter. Xylooligosaccharides production from alkali-pretreated sugarcane bagasse using xylanases from *thermoascus aurantiacus*. **Applied biochemistry and biotechnology**. v. 162, n. 4, p. 1195–1205, 2010.
- CARVALHO, Danila Morais de; QUEIROZ, José Humberto de; COLODETTE, Jorge Luiz. Assessment of alkaline pretreatment for the production of bioethanol from eucalyptus , sugarcane bagasse and sugarcane straw. **Industrial Crops & Products**. v. 94, p. 932–941, 2016.
- CHI, Congcong *et al.* A Method for Rapid Determination of Sugars in Lignocellulose Prehydrolyzate. **BioResources**. v. 8, n. 1, p. 172–181, 2013.
- DA SILVA, Gabriela Fiori *et al.* Orange Bagasse Pellets as a Carbon Source for Biobutanol Production. **Current Microbiology**. v. 77, n. 12, p. 4053–4062, 2020.
- DODD, Dylan; CANN, Isaack. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **GCB Bioenergy**. v. 1, p. 2–17, 2009.

- ELWAKEEL, K. Z. et al. Adsorption of toxic acidic dye from aqueous solution onto diethylenetriamine functionalized magnetic glycidyl methacrylate-N, N'-methylenebisacrylamide. **RSC advances**. v. 6, n. 4, p. 3350-3361, 2016.
- EMILIA, Victoria; SANTOS, Neves; MAGRINI, Alessandra. Biorefining and industrial symbiosis: a proposal for regional development in Brazil. **Journal of Cleaner Production**. v. 177, p. 19–33, 2018.
- FAISAL, Nazlee; DIANA, Nur; RAZAK, Abdul. Recovery of saccharides from lignocellulosic hydrolysates using nanofiltration membranes: A review. **Food and Bioproducts Processing**. v. 126, p. 215–233, 2016.
- FIELDS, Peter R.; WILSON, Robin J. **Process for the production of xylose**. 5,340,403. Concessão: 1994.
- HADIZADEH, Farzin; ZAKERIAN, Amir; MOHAJERI, Seyed Ahmad. Non-covalently lactose imprinted polymers and recognition of saccharides in aqueous solutions. **Journal of the Iranian Chemical Society**. v. 10, n. 2, p. 207–212, 2013.
- HARRIS, Daniel C. **Quantitative chemical analysis**. Macmillan, 2010.
- HASANAH, Aliya Nur *et al.* Molecular imprinted polymer for ethylmorphine with methacrylic acid and acrylamide as functional monomer in butanol using two polymerization method. **Mediterranean Journal of Chemistry**. v. 10, n. 3, p. 277–288, 2020.
- HERMIDA, Carmen *et al.* Improvement and Validation of D -Xylose Determination in Urine and Serum as a New Tool for the Noninvasive Evaluation of Lactase Activity in Humans. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**. v. 486, n. October 2012, p. 478–486, 2014.
- HERNÁNDEZ-PÉREZ, Andrés *et al.* Sugarcane syrup improves xylitol bioproduction from sugarcane bagasse and straw hemicellulosic hydrolysate. **Waste and Biomass Valorization**. v. 11, n. 8, p. 4215–4224, 2020.
- HERRMANN, Paulo S. P *et al.* Microscopia de varredura por força: uma ferramenta poderosa no estudo de polímeros. **Polímeros**. v. 7, p. 51–61, 1997.
- HWANG, Nina; BARRON, Andrew R. BET Surface Area Analysis of Nanoparticles. **The Connexions project**. p. 1–11, 2011.
- GUIDELINE, ICH. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. Validation Of Analytical Procedures: text and methodology Q2(R1). *In*: , 2005. 2005.
- IONASHIRO, Massao; CAIRES, Flávio J; GOMES, D J C. **Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial**. v. 1, 2005
- ISMAEL, Mohamed N. M. *et al.* Removal of hexavalent chromium by cross-linking chitosan and N,N'-methylene bis-acrylamide. **Environmental Processes**. v. 7, n. 3, p. 911–930, 2020.
- JAFFE, Gerald Myer; SZKRYBALO, William; WEINERT, Peter Hans. **Process for producing xylose**. 3,784,408. Concessão: 1974.

JAYASINGHE, G D Thilini Madurangika; MOREDA-PIÑEIRO, Antonio. Molecularly Imprinted polymers for dispersive (micro) solid phase extraction : a review. **Separations**. v. 8, p. 99, 2021.

KISZONAS, Alecia M; COURTIN, Christophe M; MORRIS, Craig F. A Critical Assessment of the Quantification of Wheat Grain Arabinoxylans Using a Phloroglucinol Colorimetric Assay. **ResearchGate**. v. 89, n. 3, p. 143–150, 2012.

KOR, Kamalodin; ZAREI, Kobra. Development and characterization of an electrochemical sensor for furosemide detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. **Talanta**. v. 146, p. 181–187, 2016.

LU, Wenhui *et al.* Dual-template molecularly imprinted polymers for dispersive solid-phase extraction of fluoroquinolones in water samples coupled with high performance liquid chromatography. **Analyst**. v. 144, n. 4, p. 1292–1302, 2019.

MACHMUDAH, Siti; KANDA, Hideki; GOTO, Motonobu. Hydrolysis of biopolymers in near-critical and subcritical water. **Water Extraction of Bioactive Compounds**. Elsevier, p. 69-107, 2017.

MAGALHÃES, Antônio Sávio G. *et al.* Application of ftir in the determination of acrylate content in poly(sodium acrylate-CO-acrylamide) superabsorbent hydrogels. **Quimica Nova**. v. 35, n. 7, p. 1464–1467, 2012.

MAH, K H *et al.* Separation and Purification Technology Optimisation of interfacial polymerization factors in thin-film composite (TFC) polyester nanofiltration (NF) membrane for separation of xylose from glucose. **Separation and Purification Technology**. v. 209, n. July 2018, p. 211–222, 2019.

MANTOVAN, Janaina *et al.* Valorization of orange bagasse through one-step physical and chemical combined processes to obtain a cellulose-rich material. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 101, n. 6, p. 2362-2370, 2021.

MARCONDES, Wilian F; MILAGRES, Adriane M F; ARANTES, Valdeir. Co-production of xylo-oligosaccharides, xylose and cellulose nanofibrils from sugarcane bagasse. **Journal of Biotechnology**. v. 321, n. July, p. 35–47, 2020.

MENDES, Francisco R S *et al.* Preparation and evaluation of hemicellulose films and their blends. **Food hydrocolloids**. v. 70, p. 181–190, 2017.

MENEZES, BRUNA DA SILVA. Produção de xilooligossacarídeos a partir de resíduos lignocelulósicos e fungos filamentosos. 2018.

MOREIRA, Luis Felipe Pompeu Prado; BUFFON, Edervaldo; STRADIOTTO, Nelson Ramos. Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and molecularly imprinted poly(phenol) for D-xylose determination. **Talanta**. v. 208, n. September 2019, p. 120379, 2020.

NAGY, Gabe; PENG, Tianyuan; POHL, Nicola L B. Recent liquid chromatographic approaches and developments for the separation and purification of carbohydrates. **Analytical Methods**. v. 9, p. 3579–3593, 2017.

NASCIMENTO, Ronaldo Ferreira *et al.* **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. 2020.

NDUNDA, Elizabeth N. Molecularly imprinted polymers — A closer look at the control polymer used in determining the imprinting effect: A mini review. **Journal of Molecular Recognition**. v. 33, p. 1–11, 2020.

NEGRO, Viviana *et al.* Resources , Conservation & Recycling Life cycle assessment of orange peel waste management. **Resources, Conservation & Recycling**. v. 127, n. June, p. 148–158, 2017.

NEVES, Marcos Fava *et al.* Global orange juice market : a 16-year summary and opportunities for creating value. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, n. 3, p. 166-174, 2020.

OKUTUCU, Burcu; ÖNAL, Seçil. Molecularly imprinted polymers for separation of various sugars from human urine. **Talanta**. v. 87, n. 1, p. 74–79, 2011.

OKUTUCU, Burcu; ÖNAL, Seçil; TELEFONCU, Azmi. Noncovalently galactose imprinted polymer for the recognition of different saccharides. **Talanta**. v. 78, p. 1190–1193, 2009.

PANJAN, Peter *et al.* Development of a folic acid molecularly imprinted polymer and its evaluation as a sorbent for dispersive solid-phase extraction by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. v. 1576, p. 26–33, 2018.

PAULING, Linus. A Theory of the Structure and Process of Formation of Antibodies. **Journal of the American Chemical Society**. v. 62, n. 10, p. 2643–2657, 1940.

PEREIRA, Beatriz Salustiano *et al.* Enzymatic Production of Xylooligosaccharides from Xylan Solubilized from Food and Agroindustrial Waste. **BioEnergy Research**. p. 1195–1203, 2022.

PIZAN-AQUINO, Charles *et al.* Evaluation of the performance of selective M-MIP to tetracycline using electrochemical and HPLC-UV method. **Materials Chemistry and Physics**. v. 245, p. 122777, 2020.

POLYAKOV, M V. Adsorption properties and structure of silica gel. **Zhur Fiz Khim**. v. 2, p. 799–805, 1931.

PUPIN, RAFAEL ROVATTI. **Síntese e aplicação de polímeros com impressão molecular (MIP) e uso de aptâmeros na construção de dispositivos de análise rápida do tipo fluxo lateral para determinação de tetraciclina**. 2021.

QASEEM, Mirza Faisal; SHAHEEN, Humaira; WU, Ai-Min. Cell wall hemicellulose for sustainable industrial utilization. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 144, p. 110996, 2021.

REBELO, Patrícia *et al.* Molecularly imprinted polymer-based electrochemical sensors for environmental analysis. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 172, p. 112719, 2021.

REDDY, Byru Venkatram; GANDHAM, Ramana Rao. Vibrational spectra and modified valence force field for N , N ' - methylenebisacrylamide Vibrational spectra and modified valence force field for N, N'-methylenebisacrylamide. **Indian Journal of Pure & Applied Physics**. v. 46, p. 611-616, 2008.

RIVAS, Beatriz *et al.* Submerged Citric Acid Fermentation on Orange Peel Autohydrolysate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 56, p. 2380–2387, 2008.

RUIZ-CÓRDOVA, Gerson A. *et al.* Surface molecularly imprinted core-shell nanoparticles and reflectance spectroscopy for direct determination of tartrazine in soft drinks. **Analytica Chimica Acta**. v. 1159, p. 338443, 2021.

SABBAGH, Farzaneh; IDAYU, Ida. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers Acrylamide-based hydrogel drug delivery systems : Release of Acyclovir from MgO nanocomposite hydrogel. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**. v. 72, p. 182–193, 2017.

SADH, Pardeep Kumar; DUHAN, Surekha; DUHAN, Joginder Singh. Agro - industrial wastes and their utilization using solid state fermentation : a review. **Bioresources and Bioprocessing**. p. 1–15, 2018.

SLUITER, Justin B. *et al.* Compositional Analysis of Lignocellulosic Feedstocks. 1. Review and Description of Methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, n. 16, p. 9043–9053, 2010.

TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; KUBOTA, L. T. Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 1: preparo e aplicações de mip (“molecularly imprinted polymers”) em técnicas de extração e separação. **Química Nova**. v. 28, n. 6, p. 1076–1086, 2005.

TEIXEIRA, Viviane Gomes; COUTINHO, Fernanda M. B.; GOMES, Ailton S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**. v. 24, n. 6, p. 808–818, 2001.

YANTI *et al.* Synthesis and characterization of MAA-based molecularly-imprinted polymer (MIP) with D-glucose template Synthesis and characterization of MAA-based molecularly- imprinted polymer (MIP) with D-glucose template. **Journal of Physics**. p. 012143, 2016.

ZHAO, Xin-fa *et al.* Synthesis, characterization, and adsorption capacity of crosslinked starch microspheres with N, N'-methylene bisacrylamide. **Journal of applied polymer science**. v. 109, n. 4, p. 2571–2575, 2008.