

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA-PPGQUI  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**WEIDA RODRIGUES SILVA**

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE  
IMPRESSOS PARA PRÉ-CONCENTRAÇÃO, EXTRAÇÃO E DETECÇÃO DE  
COMPOSTOS DE INTERESSE FORENSE E AMBIENTAL**

**Uberlândia**

**2024**

**WEIDA RODRIGUES SILVA**

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE  
IMPRESSOS PARA PRÉ-CONCENTRAÇÃO, EXTRAÇÃO E DETECÇÃO DE  
COMPOSTOS DE INTERESSE FORENSE E AMBIENTAL**

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Federal de Uberlândia, como  
parte dos requisitos para obtenção do título  
de Doutora em Química.

**Orientador:** Prof. Dr. João Flávio da Silveira  
Petrucci.

**Bolsista:** Conselho Nacional de  
Desenvolvimento Científico e Tecnológico,  
CNPq, Brasil.

**Uberlândia**

**2024**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S586  
2024 Silva, Weida Rodrigues, 1989-  
DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE POLÍMEROS  
MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA PRÉ-CONCENTRAÇÃO, EXTRAÇÃO  
E DETECÇÃO DE COMPOSTOS DE INTERESSE FORENSE E AMBIENTAL  
[recurso eletrônico] / Weida Rodrigues Silva. - 2024.

Orientador: João Flávio da Silveira Petrucí.  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Química.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2024.168>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Petrucí, João Flávio da Silveira, 1984-,  
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-  
graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química  
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



### ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 155, PPGQUI				
Data:	Vinte e dois de fevereiro de dois mil e vinte e quatro	Hora de início:	9h	Hora de encerramento:	13:50
Matrícula do Discente:	11923QMI012				
Nome do Discente:	Weida Rodrigues Silva				
Título do Trabalho:	“DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA PRÉ-CONCENTRAÇÃO, EXTRAÇÃO E DETECÇÃO DE COMPOSTOS DE INTERESSE FORENSE E AMBIENTAL”				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Instrumentação Analítica e Preparo de Amostras				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	“Desenvolvimento de polímeros molecularmente impressos para extração e pré-concentração de espécies de interesse forense”				
<u>ODS</u>	6 (Água Potável e Saneamento) e 12 (Consumo e Produção Responsáveis)				

Reuniu-se, no auditório Professor Manuel Gonzalo Hernandez Terrones, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: **Anizio Marcio de Faria**, ICENP, Universidade Federal de Uberlândia; **Regina Massako Takeuchi**, ICENP, Universidade Federal de Uberlândia; **Andréa Rodrigues Chaves**, Universidade Federal de Goiás; **Vanessa Nunes Alves**, da Universidade Federal de Catalão; e **João Flávio da Silveira Petrucci**, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, **Dr. João Flávio da Silveira Petrucci**, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **João Flávio da Silveira Petrucci, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/02/2024, às 13:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Regina Massako Takeuchi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/02/2024, às 13:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Anizio Marcio De Faria, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/02/2024, às 13:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andrea Rodrigues Chaves, Usuário Externo**, em 23/02/2024, às 19:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Nunes Alves, Usuário Externo**, em 25/02/2024, às 15:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **5142473** e o código CRC **C057246D**.

## DADOS CURRICULARES

### IDENTIFICAÇÃO

**Nome:** Weida Rodrigues Silva

**Nome em citações bibliográficas:** Silva, W.R.

### FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

**2017 - 2019:** Mestrado em Química – Universidade Federal de Uberlândia. Título da dissertação: “Desenvolvimento de procedimento analítico de pré-concentração de Cr (III) em fase sólida empregando ponteiras descartáveis em matrizes aquosas”. Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Nívia Maria Melo Coelho.

**2017 - 2019:** Licenciatura em Química – Universidade de Uberaba, UNIUBE.

**2006 - 2009:** Bacharelado em Química Industrial – Universidade Estadual de Goiás, Câmpus de Anápolis. Trabalho de conclusão de curso: “Estudo da influência da qualidade da matéria-prima no rendimento de produção de milho verde em conserva”. Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Mariana Ferreira Oliveira.

### PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

- XXXIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. Desenvolvimento de procedimento analítico de pré - concentração de Cr(III) empregando DPX. 2019 (Encontro).
- 44<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Síntese e caracterização de um polímero molecularmente impresso (MIP) para extração seletiva de escopolamina para potenciais aplicações forenses. 2021 (Congresso). Evento *online*.
- II WORKSHOP: Polímeros Molecularmente Impresos (MIPs) para la detección de contaminantes emergentes. 2021 (Seminário). Evento *online*.
- XIII Semana de Química - UFCat. Otimização de um dispositivo de microextração em ponteiras empregando polímero molecularmente impresso

- para determinação seletiva de escopolamina. 2021 (Seminário). Evento *online*.
- 8º Workshop do PPGQUI. Divulgação científica: "você sabe o que é um MIP?". 2021 (Encontro). Vídeo está no canal do youtube do PPGQUI. Disponível em <<https://www.youtube.com/watch?v=9VmQFcZbsiE>>. Evento *online*.
  - 45º RASBQ - Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. An efficient molecularly imprinted polymer for determining scopolamine in synthetic urine samples using disposable pipette extraction. 2022. (Congresso).
  - 20º ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica. Fabrication of a tailored "plug and play" 3d printed mip-based straw for scopolamine removal in alcoholic beverages. 2022. (Encontro).
  - 34º ERSBQ - Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. Síntese one-pot de polímero molecularmente impresso fluorescente à base de nanopartículas de sílica para determinação de captopril. 2022. (Encontro).
  - 46º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. One-pot synthesis of fluorescent molecularly imprinted nanoparticles for highly selective *turn-off* detection of captopril. 2023. (Congresso).
  - III Workshop de Fruto-Refinaria. Optimize a microextraction in a disposable pipette tip using molecularly imprinted polymer for selective D-xylose determination. 2023. (Seminário). Apresentação oral.
  - VI Workshop INCT-DATREM. One-pot synthesis of fluorescent molecularly imprinted polymer based on silica nanoparticles for captopril determination. 2023. (Encontro).

#### **ARTIGOS PUBLICADOS NO PERÍODO:**

- 1) SILVA, W. R.; SOTÉ, W. O.; PETRUCI, J. F. S.; BATISTA, A. D.; COMAR JUNIOR, M. The use of in silico models for the rationalization of molecularly imprinted polymer synthesis. EUROPEAN POLYMER JOURNAL, v. 00, p.

111024, 2022.

- 2) *SILVA, W. R.*; RIBEIRO, M. A.C.; RICHTER, E. M.; BATISTA, A. D.; PETRUCI, J. F. S. A Molecularly Imprinted Polymer-Disposable Pipette Tip Extraction-Capillary Electrophoresis (MISPE-DPX-CE) Method for the Preconcentration and Determination of Scopolamine in Synthetic Urine Samples. *CHEMOSENSORS*, v. 10, p. 387, 2022.
- 3) *SILVA, W. R.*; COSTA, B. E. S.; BATISTA, A. D.; ALVES, V. N.; COELHO, N. M. M. Development of a Disposable Pipette Extraction Method Using Coffee Silverskin as an Adsorbent for Chromium Determination in Wastewater Samples by Solid Phase Extraction. *JOURNAL OF THE BRAZILIAN CHEMICAL SOCIETY*, v. 00, p. 1-10, 2022.
- 4) BATISTA, A. D.; *SILVA, W. R.*; MIZAIKOFF, B. Molecularly imprinted materials for biomedical sensing. *MEDICAL DEVICES & SENSORS*, v. 3, p. e10166, 2020.
- 5) BARRETO, D. N.; *SILVA, W. R.*; MIZAIKOFF, B.; DA SILVEIRA PETRUCI, J. F. Monitoring Ozone Using Portable Substrate-Integrated Hollow Waveguide-Based Absorbance Sensors in the Ultraviolet Range. *ACS Measurement Science Au*, v. 00, p. acsmeasuresciau.1c00028, 2021.
- 6) FERNANDES, G. M.; *SILVA, W. R.*; BARRETO, D. N.; LAMARCA, R. S.; LIMA GOMES, P. C. F.; FLÁVIO DA S PETRUCI, J.; BATISTA, A. D. Novel approaches for colorimetric measurements in analytical chemistry - A review. *ANALYTICA CHIMICA ACTA*, v. 1135, p. 187-203, 2020.
- 7) SALVADOR TOMASIN, G.; *RODRIGUES SILVA, W.*; ELIAS DOS SANTOS COSTA, B.; MARIA MELO COELHO, N. Highly sensitive determination of Cu(II) ions in hemodialysis water by F AAS after disposable pipette extraction (DPX) using *Moringa oleifera* as solid phase. *MICROCHEMICAL JOURNAL*, v. 105749, p. 105749, 2020.



**ATIVIDADES DE EXTENSÃO:**

- 1) Colaboradora da atividade de extensão VisitaQUI (2021 e 2022), promovido(a) pelo(a) Instituto de Química (IQUFU) da Universidade Federal de Uberlândia, vinculado ao programa 'VisitaQUI ', sob a coordenação do(a) Rodrigo Alejandro Abarza Munoz, com carga horária de 200 horas.
- 2) Membro equipe do Pint of Science Brasil, realizado em Araraquara-SP, novembro de 2022 (10 horas) e maio de 2023 (30 horas).

**EXPERIÊNCIA INTERNACIONAL:**

University of Córdoba, Campus of Rabanales, SPAIN.

Affordable and Sustainable Sample Preparation (AS2P) Research Group

Department of Analytical Chemistry

Supervisão: Dra. Ángela I. López Lorente

Duração: 30/08 a 17/11/2023.

Trabalho: Preparo de polímeros molecularmente impresso em papel.

***Dedico este trabalho aos pilares da minha vida: meu amado pai Florisbelo (in memoriam), minha avó Joana (in memoriam), minha mãe do coração tia Flora, e ao outro pai que a vida me deu Sebastião.***

## AGRADECIMENTOS

Tenho aqui a oportunidade de expressar a minha gratidão, registrar de maneira singela todos (as) que de alguma forma “gastaram um pouco do seu tempo insistindo”:

Ao meu pai Florisbello Rodrigues da Paz (*in memoriam*), pelo apoio incondicional. Te perder foi o maior desafio que já enfrentei e no luto eu descobri que o senhor criou uma mulher forte e corajosa. Estou aprendendo a viver com a sua ausência, mas onde quer que o senhor esteja, esta conquista é nossa!

Aos meus familiares, que me criaram, me amaram e cuidaram de mim em todas as fases da minha vida: vó Joana Paula (*in memoriam*), tia Flora e pai Sebastião. Vocês me ensinaram que a vida não é fácil, mas que juntos somos capazes de ir além. Sem o amor de vocês, nada disso seria possível, amo vocês.

Ao meu namorado, Paulo Régis, que me mostrou o amor na sua essência mais simples e necessária. Obrigada por seu meu amigo, meu companheiro, por acreditar no meu sucesso e me incentivar de maneira tão genuína. Te amo.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucci por ser incentivador em momentos de descrenças, por ser empolgação em momentos de entusiasmo, por ser foco quando tudo parece não ter mais solução, por ser amigo em momentos de tristeza. JF, você tem um lugar especial na minha vida. Muito obrigada!

Ao irmão que eu escolhi, Ravy, por estar presente em mais essa etapa da minha vida. E por trazer com você, a Gabi, o Davi e o Lucas. Ter vocês por perto me dá força, obrigada por serem família.

Aos meus amigos, Malvina e Israel, por serem colo nos momentos difíceis, por acreditarem nos meus sonhos e me incentivarem a ser quem eu quiser!

À minha pessoa, Nilivan, por ouvir meus medos, compartilhar sonhos e permitir que eu demonstre minhas fraquezas e angústias, amo você em círculos.

Aos meus amigos de Caldas Novas - GO, Luis, Isa, Rosi (e Heitor), Tirso e o Murilo. Amizades de longa data e que se mantêm nas várias fases da vida.

À outra mãe que a vida me deu, Verinha, obrigada por sempre cuidar de mim mesmo que de longe e me inspirar a estudar e seguir meus sonhos.

Aos meus amigos(as) de IQ-UFU: Tiara, Marília, Débora, Diele, Raul, Diego, Diandra, Ingrede, Caio, Gabriel e Lara, por serem apoio fundamental durante a pandemia e nos dias loucos na vida de um pós-graduando. Reclamar ao lado de vocês me ajudou a continuar. Sentirei saudades de marmitar com vocês diariamente.

Aos meus amigos da Morada do Sol (Araraquara – SP): Lucas, Caio, Saidy, Héran, João Pedro, Kallyni, Thais, Karen, Paula, Luis Fernando, Lillian, João Ângelo, Max, Sâmila, Camila. Vocês deixaram esse período longe de casa mais leve, obrigada por me acolherem tão bem.

Aos meus amigos de Córdoba (Andaluzia – Espanha): Marisol, Teresa, Kevin, Jaime, Carlos, Ana, Carmem. Aprender espanhol com vocês foi divertido!

À Profa. Dra. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor pela parceria e colaboração. Obrigada pela oportunidade de trabalhar no seu grupo de pesquisa, foi um período de muita aprendizagem.

À Profa. Dra. Ángela I. López Lorente pela supervisão no meu período sanduíche na Universidade de Córdoba. Sua generosidade e atenção foram fundamentais para que meu período e trabalho fosse tão enriquecedor.

Ao grupo de pesquisa *NANOBIOMIMETIC sensors*, do IQ – UNESP (Araraquara – SP) pelo apoio na rotina de laboratório.

Ao grupo de pesquisa *Affordable and Sustainable Sample Preparation (AS<sub>2</sub>P)*, da Universidade de Córdoba – Campus Rabanales (Córdoba – ES) por todo suporte na execução do meu trabalho.

Ao Laboratório de Modelagem Molecular e Química Computacional pelos estudos teóricos realizados, foi muito bom trabalhar com vocês!

Ao meu grupo de pesquisa, LaMinS (Laboratório de Miniaturização e Sensores) pela convivência e aprendizagens diárias.

À Fernanda, teacher sensacional que me fez amar estudar inglês.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite e disporem gentilmente a avaliar este trabalho! Obrigada pelas contribuições.

Ao Instituto de Química – UFU e o Programa de Pós-Graduação em Química, que propiciaram a realização do meu trabalho.

Aos técnicos dos laboratórios do IQ – UFU pela colaboração.

Ao CNPq pelo financiamento concedido (nº processo 141054/2020-4).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**“Em tempos em que quase ninguém se olha nos olhos, em que a maioria das pessoas pouco se interessa pelo que não lhe diz respeito, só mesmo agradecendo àqueles que percebem nossas descrenças, indecisões, suspeitas, tudo o que nos paralisa, e gastam um pouco da sua energia conosco, insistindo”.**

**Marta Medeiros**



**“Reconhece a queda  
E não desanima  
Levanta, sacode a poeira  
E dá a volta por cima”**

**Paulo Vanzolini**

## Resumo

Os Polímeros Molecularmente Impressos (do inglês *Molecularly Imprinted Polymers* -MIPs), são materiais poliméricos sintéticos elaborados para o reconhecimento molecular seletivo. A síntese dos MIPs envolve a presença do analito durante o processo de polimerização, criando sítios de ligação complementares à estrutura molecular do analito. Assim, os MIPs são capazes de reconhecer e se ligar aos compostos de interesse, reduzindo interferências de outros compostos na análise e melhorando a exatidão e confiabilidade dos resultados. Com isso, os MIPs têm se destacado como uma ferramenta importante na Química Analítica, por contribuir em etapas importantes na análise química como o preparo de amostra, além da possibilidade de aplicação como receptor de sensores químicos. Neste trabalho, foram sintetizados MIPs para aplicação em três cenários: (i) extração em fase sólida utilizando ponteira de pipeta descartável (MISPE com DPX) para pré-concentração de escopolamina em urina sintética e determinação por Eletroforese Capilar; (ii) fabricação de sensor fluorescente para determinação de captopril em amostras de água e urina e (iii) preparação de MIPs em papel (p-MIPs) para extração de naproxeno utilizando o método *polymerization-free*. O método integrado MISPE com DPX-CE obteve fator de pré-concentração de 20, com uma faixa de trabalho de 0,5 a 6  $\mu\text{M}$ , limite de detecção (LOD) de 0,04  $\mu\text{M}$ , repetibilidade de 6,4%, e recuperações satisfatórias para 2  $\mu\text{M}$  e 6  $\mu\text{M}$ , de 84% e 101%, respectivamente. A determinação de captopril foi baseada na diminuição da intensidade de fluorescência causada pela interação entre o analito e o polímero molecularmente impresso fluorescente (Si-FMIP). A síntese do material utilizou nanopartículas de sílica em conjunto com monômero fluorescentes. O método apresentou uma faixa de trabalho de 1 a 15  $\mu\text{M}$  para análise de águas residuais, com LOD de 0,7  $\mu\text{M}$ , repetibilidade de 5,4%, e recuperações adequadas para 1,5  $\mu\text{M}$ , 3,5  $\mu\text{M}$  e 10  $\mu\text{M}$ , de 98,5%, 99,9% e 99,2%, respectivamente. Para amostras de urina sintética, o método apresentou uma faixa de 0,5 a 15  $\mu\text{M}$ , LOD de 0,4  $\mu\text{M}$ , repetibilidade de 7,4%, e recuperações de 93,7%, 92,9%, 98,0%, para 1,5  $\mu\text{M}$ , 3,5  $\mu\text{M}$  e 7,5  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Para o preparo de p-MIPs, foram avaliados o uso de PVDF, PVA e náilon-6, embora ainda haja desafios a serem superados, como a otimização das proporções dos reagentes, os resultados encontrados neste estudo indicam um caminho promissor para o aprimoramento contínuo dessa abordagem de preparo. Contudo, os MIPs apresentados ilustraram a versatilidade de aplicação desses materiais, desde a extração em fase sólida até a fabricação de sensores, evidenciando sua relevância na preparação de amostras e na detecção de compostos farmacêuticos em ambientes biológicos e ambientais.

**Palavras-chave:** Preparo de amostras, microextração em fase sólida, pré-concentração, Polímeros molecularmente impressos fluorescentes, estratégia *one-pot*.

## Abstract

Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) are synthetic polymeric materials designed for selective molecular recognition. The synthesis of MIPs involves the presence of the analyte during the polymerization process, creating binding sites that are complementary to the molecular structure of the analyte. Thus, MIPs can recognize and bind to the compounds of interest, reducing interference from other compounds in the analysis and improving the accuracy and reliability of the results. Therefore, MIPs have become an important tool in analytical chemistry, contributing to important steps in chemical analysis such as sample preparation, as well as being able to be used as receptors for chemical sensors. In this work, MIPs have been synthesized for application in three scenarios: (i) solid-phase extraction using a disposable pipette tip (MISPE with DPX) for the preconcentration of scopolamine in synthetic urine and determination by capillary electrophoresis; (ii) fabrication of a fluorescent sensor for the determination of captopril in water and urine samples; and (iii) preparation of paper MIPs (p-MIPs) for the extraction of naproxen using the polymerization-free method. The integrated MISPE method with DPX-CE achieved a preconcentration factor of 20 with a working range of 0.5 to 6  $\mu\text{M}$ , a limit of detection (LOD) of 0.04  $\mu\text{M}$ , a repeatability of 6.4%, and satisfactory recoveries for 2  $\mu\text{M}$  and 6  $\mu\text{M}$  of 84% and 101%, respectively. The determination of captopril was based on the decrease in fluorescence intensity caused by the interaction between the analyte and the fluorescent molecularly imprinted polymer (Si-FMIP). The material was synthesized using silica nanoparticles together with fluorescent monomers. The method demonstrated an LOD of 0.7  $\mu\text{M}$ , repeatability of 5.4%, and adequate recoveries of 98.5%, 99.9%, and 99.2% at 1.5  $\mu\text{M}$ , 3.5  $\mu\text{M}$ , and 10  $\mu\text{M}$ , respectively, for wastewater analysis over a working range of 1 to 15  $\mu\text{M}$ . For synthetic urine samples, the method showed a range of 0.5 to 15  $\mu\text{M}$ , an LOD of 0.4  $\mu\text{M}$ , repeatability of 7.4%, and recoveries of 93.7%, 92.9%, 98.0%, for 1.5  $\mu\text{M}$ , 3.5  $\mu\text{M}$ , and 7.5  $\mu\text{M}$ , respectively. PVDF, PVA and Nylon-6 were evaluated for preparing p-MIPs. Although there are still challenges to be overcome, such as optimizing the proportions of reagents, the results found in this study indicate a promising path for continuous improvement of this preparation approach. However, the presented MIPs illustrate the versatility of the application of these materials, from solid phase extraction to sensor fabrication, highlighting their relevance in sample preparation and detection of pharmaceutical compounds in biological and environmental environments.

**Keywords:** Sample preparation, solid phase microextraction, preconcentration, fluorescent molecularly imprinted polymers, one-pot strategy.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.1–</b> (A) Número de publicações científicas sobre MIPs nos últimos anos. (B) Distribuição das publicações seguindo as categorias do <i>Web of Science</i> .....	26
<b>Figura 1.2–</b> Esquema representativo das etapas na síntese do MIP: (A) pré-polimerização, (B) polimerização, (C) remoção da molécula molde, (D) religação da molécula molde.....	29
<b>Quadro 1.1–</b> Aplicações dos MIPs em diversas áreas.....	31
<b>Figura 2.1–</b> Estruturas do agente de ligação cruzada (EGDMA), iniciador radicalar (ABCN), monômeros funcionais: ACR, AAC e MAA.....	44
<b>Figura 2.2–</b> Fluxograma do preparo dos polímeros MIP/NIP.....	45
<b>Figura 2.3–</b> Esquema representativo das etapas realizadas na extração DPX para avaliação da religação da MM.....	46
<b>Figura 2.4–</b> Função de distribuição radial $[g(r)]$ , dos ligantes investigados em torno de escopolamina com o EGDMA.....	53
<b>Figura 2.5–</b> Representação das 3 ligações de hidrogênio (representado pela linha tracejada em amarelo) formadas entre ACR e escopolamina durante a simulação.....	54
<b>Figura 2.6–</b> Espectros de absorção UV-Vis dos solventes utilizados na remoção da MM dos MIPs: 1- indica mistura ácido acético – metanol (1:9); 2- indica apenas metanol.....	55
<b>Figura 2.7–</b> Espectros de absorção UV-Vis dos solventes utilizados na remoção da MM dos NIPs: 1- indica mistura ácido acético – metanol (1:9); 2- indica apenas metanol.....	56
<b>Figura 2.8–</b> Estruturas das moléculas utilizadas para o teste de seletividade.....	58
<b>Figura 2.9–</b> Capacidade de adsorção de MIP-ACR e NIP-ACR para escopolamina e moléculas análogas.....	58
<b>Figura 2.10–</b> Espectros FTIR de polímero impresso (MIP-ACR) e não impresso polímero (NIP-ACR) .....	60
<b>Figura 2.11–</b> Imagens obtidas no MEV: (A) MIP-ACR 5000x, (B) MIP-ACR 10000x, (C) NIP-ACR 5000x, (D) NIP-ACR 10000x.....	61
<b>Figura 2.12–</b> Avaliação da porcentagem de adsorção dos polímeros: MIP-ACR e NIP-ACR.....	63



<b>Figura 2.13</b> – Isoterma de adsorção experimental do MIP-ACR e NIP-ACR.....	64
<b>Figura 2.14</b> – Ajustes dos dados experimentais isoterma de Langmuir (A) MIP-ACR e (B) NIP-ACR.....	65
<b>Figura 2.15</b> – Ajustes de dados experimentais isoterma de Freundlich (A) MIP-ACR e (B) NIP-ACR.....	66
<b>Figura 2.16</b> – Avaliação da influência do pH meio no FI.....	68
<b>Figura 2.17</b> – (A) Eletroferogramas obtidos após o procedimento de pré-concentração. Pico “SCP”: Escopolamina utilizando o detector 1. (B) Curva analítica obtida após o procedimento de pré-concentração.....	73
<b>Quadro 3.1</b> – Aplicações de Polímeros Molecularmente Impressos Fluorescentes.	80
<b>Figura 3.1</b> – Estruturas da molécula molde (CPT), monômero funcional (APTES), fluoróforo (FITC), precursor da sílica (TEOS).....	84
<b>Figura 3.2</b> – Fluxograma do preparo dos polímeros Si-FMIP/Si-FNIP.....	85
<b>Figura 3.3</b> – Estruturas das substâncias utilizadas na verificação da seletividade do Si-FMIP.....	87
<b>Figura 3.4</b> – (A) Alguns sobrenadantes da etapa de remoção do CPT, começando pela etapa 1 (L1) e finalizando com a etapa 11 (L11). (B) Cromatogramas das etapas de lavagem para remoção do CPT que foram realizadas para Si-FMIP <sub>B</sub> .....	90
<b>Figura 3.5</b> – Efeitos de diferentes proporções molares dos reagentes na síntese do Si-FMIPs e Si-FNIPs.....	92
<b>Figura 3.6</b> – (A) Soluções de APTES-ninhidrina utilizadas para a curva de calibração. (B) Curva de calibração usando APTES e ninhidrina.....	94
<b>Figura 3.7</b> – Resposta de fluorescência dos Si-FMIP e Si-FNIP ao CPT e as moléculas teste. A concentração das moléculas: 25 µM; concentração de polímero: 2 mg mL <sup>-1</sup> ; solvente: água/etanol (1/1, v/v); comprimentos de onda de excitação/emissão: 490/520 nm.....	96
<b>Figura 3.8</b> – Micrografias eletrônicas de transmissão de (A) Si-FMIP (escala 100 nm) e (B) Si-FNIP (escala 200 nm). Histogramas com o tamanho médio dos polímeros fluorescentes (n=225) (C) Si-FMIP e (D) Si-FNIP.....	97
<b>Figura 3.9</b> – Espectros FTIR para Si-FMIP e Si-FNIP.....	99

<b>Figura 3.10</b> – Avaliação da religação de CPT em diferentes solventes.....	101
<b>Figura 3.11</b> – Avaliação da concentração da suspensão de Si-FMIP/Si-FNIP na religação de CPT.....	101
<b>Figura 3.12</b> – Avaliação do tempo de contato entre Si-FMIP/Si-FNIP e CPT.....	102
<b>Figura 3.13</b> – Avaliação da performance dos polímeros Si-FMIP/Si-FNIP em diferentes concentrações de CPT.....	103
<b>Figura 4.1</b> – Estruturas dos reagentes envolvidos no preparo dos MIPs.....	112
<b>Figura 4.2</b> – Fluxograma do preparo dos polímeros p-MIP/ p-NIP.....	113

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1</b> – Comparação dos principais procedimentos de preparo de MIPs.....	30
<b>Tabela 2.1</b> – Quantidade dos reagentes utilizados nas sínteses.....	44
<b>Tabela 2.2</b> – Matriz do planejamento fatorial $2^3$ para adsorção de SCP.....	49
<b>Tabela 2.3</b> – Matriz do planejamento fatorial $2^3$ para dessorção de SCP.....	50
<b>Tabela 2.4</b> – Número máximo de ligações de hidrogênio entre a SCP os monômeros e o EGDMA.....	52
<b>Tabela 2.5</b> – Fatores de impressão e capacidade adsorptivas para as formulações de MIP preparadas com diferentes monômeros.....	57
<b>Tabela 2.6</b> – Parâmetros $F_{I\alpha}$ e $\beta$ para avaliação da seletividade de moléculas análogas em relação aos polímeros impressos (MIP-ACR e NIP-ACR) .....	59
<b>Tabela 2.7</b> – Resultados BET e BJH obtidos para MIP-ACR e NIP-ACR.....	62
<b>Tabela 2.8</b> – Parâmetros obtidos nos ajustes aos modelos de isotermas.....	67
<b>Tabela 2.9</b> – Avaliação univariado da etapa de condicionamento do processo de extração em ponteiros contendo o adsorvente.....	69
<b>Tabela 2.10</b> – Resposta do planejamento fatorial $2^3$ para adsorção de SCP.....	69
<b>Tabela 2.11</b> – Avaliação das relações entre as variáveis propostas: 1 – tempo, 2 – massa, 3 – ciclos de extração.....	70
<b>Tabela 2.12</b> – Resposta do planejamento fatorial $2^3$ para dessorção de SCP..	71
<b>Tabela 2.13</b> – Avaliação das relações entre as variáveis propostas: 1 – volume de solvente, 2 – concentração metanol, 3 – ciclos de eluição.....	72
<b>Tabela 2.14</b> – Parâmetros analíticos do método proposto para pré-concentração de escopolamina.....	74
<b>Tabela 2.15</b> – Comparação do desempenho analítico do método MISPE com dispositivo DPX-CE com estudos publicados anteriormente para pré-concentração de escopolamina .....	75
<b>Tabela 3.1</b> – Quantidade de reagentes utilizados na síntese de Si-FMIP e Si-FNIP.....	85
<b>Tabela 3.2</b> – Quantificação de grupos amino utilizando teste colorimétrico com ninhidrina para identificar e comparar a presença de aminas primárias.....	95

<b>Tabela 3.3</b> – Parâmetros $F_{\alpha}$ e $\beta$ para avaliação da seletividade de diferentes moléculas aos polímeros impressos Si-FMIP e Si-FNIP. Concentração de cada molécula: 25 $\mu\text{M}$ .....	96
<b>Tabela 3.4</b> – Potenciais Zeta para de nanopartículas de sílica pura (Si-NP) e funcionalizadas com polímeros (Si-FMIP/Si-FNIP) em tampão fosfato (0,01 mol $\text{L}^{-1}$ , pH = 7,4) e a 25 $^{\circ}\text{C}$ .....	100
<b>Tabela 3.5</b> – Parâmetros analíticos do método Si-FMIP proposto para determinação de CPT nas amostras de águas residuárias.....	104
<b>Tabela 3.6</b> – Parâmetros analíticos do método Si-FMIP proposto para determinação de CPT nas amostras de urina sintética.....	105
<b>Tabela 3.7</b> – Comparação do desempenho analítico do método Si-FMIP com estudos publicados anteriormente para quantificação de CPT.....	105
<b>Tabela 4.1</b> – Emprego do método <i>polymerization-free</i> no preparo de MIPs.....	110
<b>Tabela 4.2</b> – Quantidade de reagentes utilizados na primeira preparação de p-MIP e p-NIP. Solvente utilizado DMF.....	114
<b>Tabela 4.3</b> – Quantidade de reagentes utilizados na segunda preparação de p-MIP e p-NIP.....	115
<b>Tabela 4.4</b> – Composições das misturas preparadas de p-MIP e p-NIP expressa em porcentagem.....	116
<b>Tabela 4.5</b> – Planejamento Box- Behnken para as composições de p-MIP e p-NIP expressa em porcentagem. Onde %ext = porcentagem de extração.....	117

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAC	Ácido acrílico
ABCN	1'-azobis(ciclohexanocarbonitrila)
ACR	Acrilamida
APTES	Aminopropiltriétoxissilano
ATR	Atropina
BGE	do inglês <i>Background Electrolyte</i>
BSCP	Butil-escopolamina
BET	Brunauer–Emmett–Teller
BJH	Barrett–Joyner–Halend
CE	do inglês <i>Capillary Electrophoresis</i>
C <sup>4</sup> D	Detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente
CPT	Captopril
DM	Dinâmica Molecular
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPR	Desvio padrão relativo
DPX	do inglês <i>Disposable Pipette Extraction</i>
EDS	do inglês <i>Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy</i>
EGDMA	Dimetacrilato de etilenoglicol
FE	Fase extratora
FI	Fator de impressão molecular
FITC	FITC- isotiocianato de fluoresceína
Fl <sub>α</sub>	Fator de impressão molecular para outros analitos
FT - IR	do inglês <i>Fourier transform infrared</i>
GC-MS	do inglês <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
HPLC	do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
I	Intensidade de fluorescência
I <sub>0</sub>	Intensidade de fluorescência inicial
I <sub>R</sub>	Intensidade de fluorescência relativa
LC-MS	do inglês <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i>
LLE	do inglês <i>Liquid-Liquid Extraction</i>

LLME	do inglês <i>Liquid-Liquid Microextraction</i>
LOD	do inglês <i>Limit of Detection</i>
LOQ	do inglês <i>Limit of Quantification</i>
MAA	Ácido metacrílico
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MM	Molécula molde
MIP	do inglês <i>Molecularly Imprinted Polymers</i>
MISPE	do inglês <i>Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction</i>
MF	Monômero funcional
NPX	Naproxeno
NIP	do inglês <i>Non-imprinted Polymers</i>
PEPs	do inglês <i>Potential Emerging Pollutants</i>
p-MIP	Polímeros molecularmente impressos em papel
p-NIP	Polímeros não impresso em papel
PVA	Álcool polivinílico
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
Q	Capacidade adsortiva
RAFT	do inglês <i>Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer</i>
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
SCP	Escopolamina
SFE	do inglês <i>Supercritical Fluid Extraction</i>
Si-MIP	Polímeros molecularmente impressos à base de sílica
Si-FMIP	Polímeros molecularmente impresso fluorescentes à base de sílica
Si-NIP	Polímeros não impressos à base de sílica
Si-FNIP	Polímeros não impresso fluorescentes à base de sílica
SPE	do inglês <i>Solid-Phase Extraction</i>
SPME	do inglês <i>Solid-Phase Microextraction</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TEM	do inglês <i>Transmission Electron Microscope</i>
TEOS	Tetraetilortosilicato
TLC	do inglês <i>Thin- Layer Chromatography</i>
UHPLC	do inglês <i>Ultra-high Performance Liquid Chromatography</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>26</b>
1.1	Polímeros Molecularmente Impressos (MIP)	28
1.2	Aplicações de MIPs: estado da arte	31
<b>2</b>	<b>SÍNTESE DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (MISPE) DE ESCOPOLAMINA EM AMOSTRAS DE URINA SINTÉTICA</b>	<b>33</b>
2.1	Introdução	33
2.1.1	Preparo de amostras	34
2.1.2	Extração em fase sólida empregando polímeros molecularmente impressos – MISPE	35
2.1.3	Extração em ponteira descartável	37
2.1.4	Eletroforese Capilar (CE)	38
2.2	Objetivos	39
2.2.1	Objetivo geral	39
2.2.2	Objetivos específicos	40
2.3	Materiais e métodos	40
2.3.1	Reagentes e soluções	40
2.3.2	Instrumentação	41
2.3.3	Estudo teórico	42
2.3.4	Síntese dos polímeros (MIP/NIP)	43
2.3.5	Avaliação da religação polímero-analito	45
2.3.6	Estudo da seletividade	47
2.3.7	Estudo do pH de adsorção	47
2.3.8	Estudo do tempo de adsorção	47
2.3.9	Construção das isotermas de adsorção	48
2.3.10	Estudo univariado do condicionamento da fase sólida	48
2.3.11	Otimização das etapas de extração e dessorção na DPX	48
2.2.11.1	<i>Estudo das condições de adsorção por planejamento fatorial 2<sup>3</sup></i>	49
2.2.11.2	<i>Estudo das condições de dessorção por planejamento fatorial 2<sup>3</sup></i>	49
2.3.12	Parâmetros analíticos	50
2.3.13	Aplicação em amostras de urina sintética	51
2.4	Resultados e discussões	52

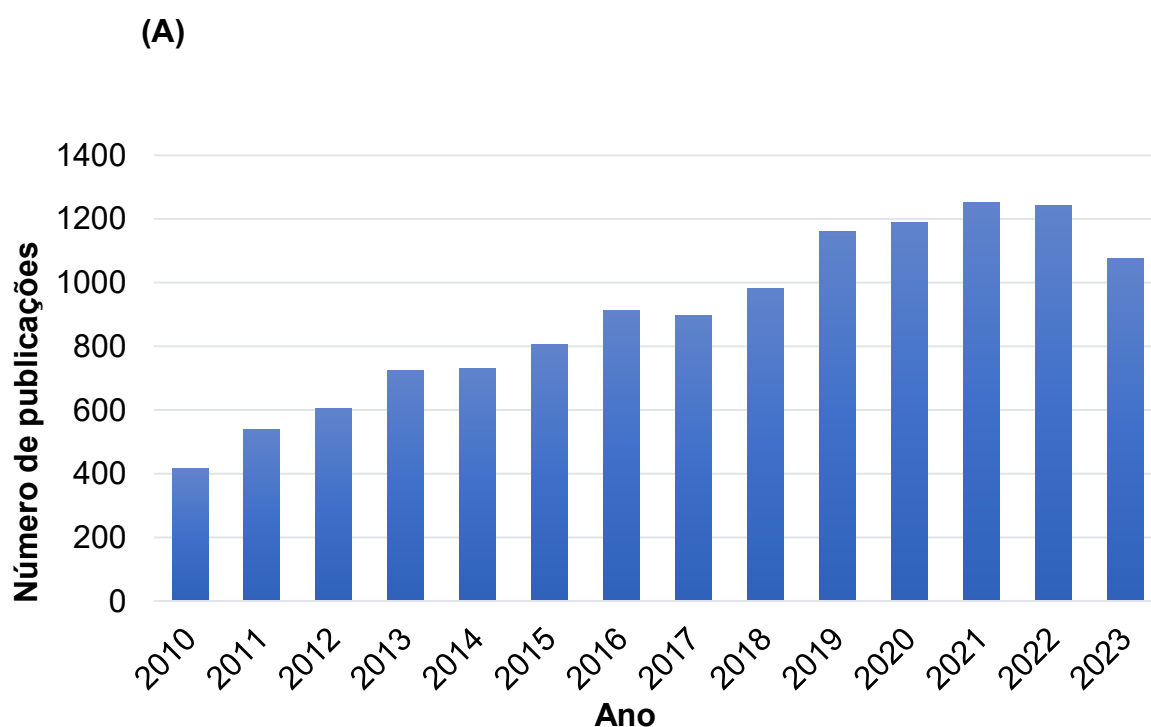
2.4.1	Estudo teórico: Dinâmica Molecular .....	52
2.4.2	Síntese e preparação dos polímeros (MIP/NIP) .....	54
2.4.3	Obtenção dos fatores de impressão molecular (FI) .....	56
2.4.4	Seletividade dos polímeros sintetizados .....	57
2.4.5	Caracterização morfológica e estrutural do MIP-ACR e NIP-ACR .....	59
2.4.6	Estudos de adsorção em batelada .....	62
2.4.7	Estudos de otimização das condições de extração e dessorção da SCP no dispositivo DPX .....	67
2.4.8	Parâmetros analíticos .....	72
2.4.9	Aplicação em amostras de urina sintética .....	75
2.5	Conclusão .....	76
3	<b>SÍNTESE DE POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO FLUORESCENTE PARA APLICAÇÃO COMO SENSOR NA DETERMINAÇÃO DE CAPTOPRIL EM AMOSTRAS DE URINA SINTÉTICA E EFLUENTE .....</b>	<b>77</b>
3.1	Introdução .....	77
3.1.1	Polímeros molecularmente impresso fluorescentes (FMIPs) .....	79
3.1.2	Espectroscopia de Fluorescência .....	80
3.2	Objetivos .....	81
3.2.1	Objetivos específicos .....	81
3.3	Materiais e métodos .....	82
3.3.1	Reagentes e soluções .....	82
3.3.2	Instrumentação .....	82
3.3.3	Síntese de nanopartículas fluorescentes com impressão molecular (Si – FMIP) e nanopartículas não impressas (Si-FNIP) .....	84
3.3.4	Medidas de fluorescência .....	86
3.3.5	Otimizações das condições de religação do CPT: solvente e concentração da suspensão de Si-FMIP/Si-FNIP .....	86
3.3.6	Estudo da seletividade .....	87
3.3.7	Parâmetros analíticos .....	88
3.3.8	Aplicação em amostras de urina sintética e efluente .....	89
3.4	Resultados e discussões .....	89
3.4.1	Preparação do Si-FMIP/Si-FNIP .....	89
3.4.2	Avaliação da seletividade .....	95
3.4.3	Caracterização morfológica e estrutural de Si-FMIP e Si-FNIP .....	97

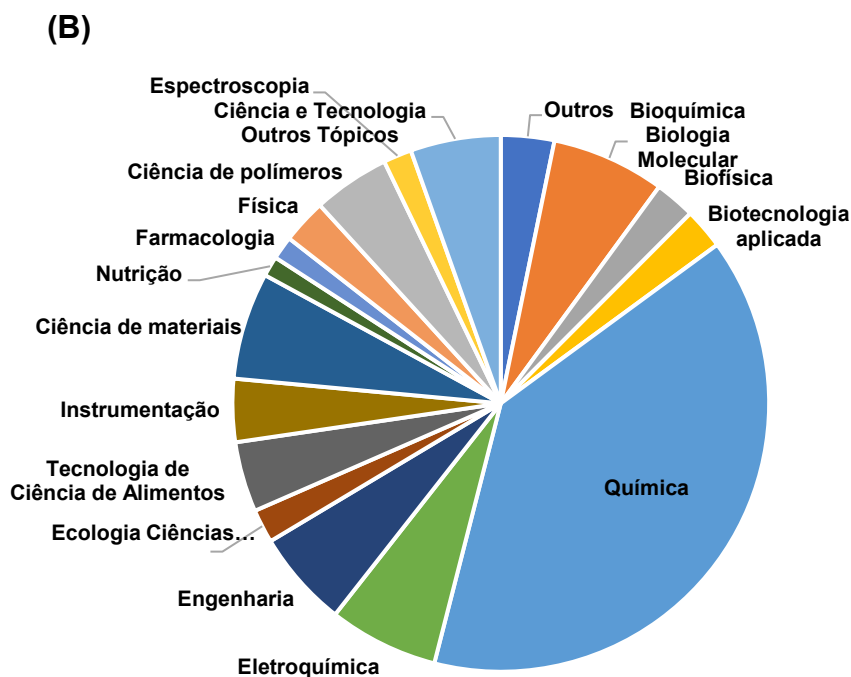


3.4.4	Otimização das condições de religação do CPT.....	100
3.4.5	Parâmetros Analíticos .....	103
3.5	Conclusão .....	106
4	DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSO EM PAPEL UTILIZANDO O MÉTODO <i>POLYMERIZATION-FREE</i> PARA APLICAÇÃO COMO FASE SÓLIDA SORTIVA .....	107
4.1	Introdução .....	107
4.1.1	MIPs em papel (p-MIP) .....	108
4.1.2	Método <i>polymerization-free</i> .....	109
4.2	Objetivos .....	110
4.2.1	Objetivos específicos .....	110
4.3	Materiais e métodos .....	111
4.3.1	Reagentes e soluções .....	111
4.3.2	Instrumentação .....	111
4.3.3	Síntese e preparação dos polímeros (p-MIP/p-NIP) .....	112
4.3.4	Avaliação do desempenho dos p-MIPs obtidos .....	113
4.4	Resultados e discussões.....	114
4.4.1	Preparação dos p-MIP/p-NIP .....	114
4.5	Perspectivas .....	118
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	119
	REFERÊNCIAS.....	120

## 1 INTRODUÇÃO

Os polímeros molecularmente impressos (do inglês *Molecularly Imprinted Polymers* -MIPs) têm ganhado atenção da comunidade científica nos últimos anos, como pode ser visto pelo aumento de publicações apresentados na **Figura 1.1-A**. Isso se deve, a busca por materiais com alta estabilidade e seletividade. Assim, estudos promissores para a obtenção de MIPs têm sido desenvolvidos em diversas áreas de pesquisa, como mostra a **Figura 1.1-B**. Os MIPs apresentam resultados satisfatórios no reconhecimento de moléculas em uma ampla faixa de massa molecular, desde moléculas voláteis (Tominaga *et al.*, 2012) a peptídeos e proteínas (Boysen, 2019), até mesmo vírus e células (Sarafray-Yazdi; Razavi, 2015). Por conta da alta seletividade, os MIPs tornam-se excelentes ferramentas analíticas para extração e pré-concentração dos mais variados analitos, podendo ser aplicados em diferentes protocolos de preparo de amostras e como sensores químicos.





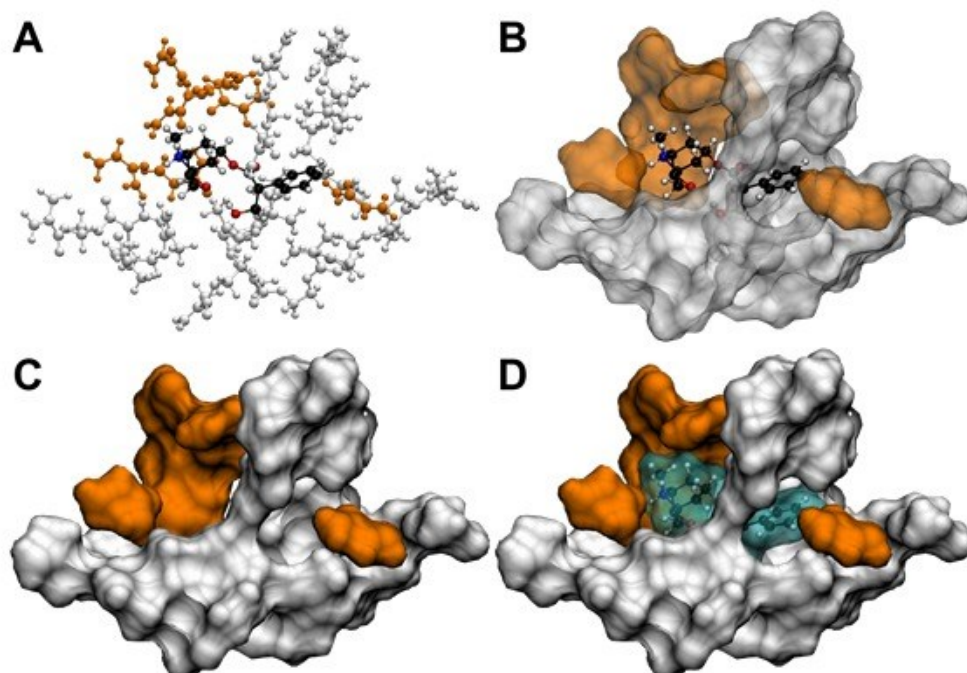
**Figura 1.1**– (A) Número de publicações científicas sobre MIPs nos últimos anos. (B) Distribuição das publicações seguindo as categorias do *Web of Science*. Fonte: *Web of Science*. Dia da pesquisa: 27-12-2023. Palavras-chave: *molecularly imprinted polymers*.

Os MIPs podem ser preparados por diferentes procedimentos adequados à aplicação final desejada. A estratégia mais comum é a síntese em *bulk*, onde a reação é realizada em sistema homogêneo. A síntese ocorre na ausência de oxigênio, sob aquecimento ou sob exposição à radiação UV, de modo a propiciar o início da reação radicalar. O sólido polimérico resultante é moído, peneirado e submetido à limpeza com solvente para extração da molécula molde (Cormack; Elorza, 2004); (Tarley; Sotomayor; Kubota, 2005). Outros métodos de preparação de MIP são relatados com intuito de produzir partículas com tamanhos uniformes. Sínteses realizadas em sistemas heterogêneos, incluem polimerização por suspensão (Dourado *et al.*, 2021), por precipitação (Jiang, X.; Liu, Z., 2012) e por expansão em múltiplas etapas (He, H. *et al.*, 2010). Além desses, outros métodos de preparo contemplam reações de polimerização dentro de poros de sólidos (sílica e resinas) (Fernandes, R. S. *et al.*, 2017) e reações de polimerização sobre superfície modificada de suporte sólido (Xu *et al.*, 2020).

## 1.1 Polímeros Molecularmente Impressos (MIP)

A tecnologia de impressão molecular começou a ser explorada em 1972, quando Wulff e Sarham conduziram estudos sobre a síntese de um polímero orgânico covalente, incluindo grupos seletivos para o ácido glicérico, em que as interações entre tal molécula e os monômeros eram de natureza covalente (Wulff; Sarhan, 1972 *apud* Figueiredo; Dias; Arruda, 2008). As análises realizadas por esses pesquisadores não apenas deram origem ao conceito de impressão molecular, mas também contribuíram para o desenvolvimento de ideias fundamentais, como a polimerização por radicais livres (Martín-Esteban, 2001); (Tarley; Sotomayor; Kubota, 2005).

Os MIPs são materiais sintéticos com a capacidade de se ligar de maneira específica a uma molécula-alvo. Esses materiais são produzidos por meio da polimerização de monômeros funcionais (MF) e reticulantes (agentes de ligação cruzada) ao redor de uma molécula molde (MM), resultando em um polímero tridimensional altamente reticulado. A escolha dos monômeros leva em consideração sua habilidade de interação com os grupos funcionais da molécula molde. A síntese de um MIP se inicia pela mistura dos MFs com a MM, assim, os monômeros irão interagir com os sítios da molécula molde por meio de interações covalentes ou não covalentes (Sarafraz-Yazdi; Razavi, 2015). Em seguida, é adicionado ao meio reacional um agente que promove ligações cruzadas no polímero a fim de formar uma matriz polimérica rígida. A reação de polimerização é iniciada após a adição de um iniciador radicalar (Tarley; Sotomayor; Kubota, 2005). Com a polimerização finalizada, a MM é removida, por meio do uso de solvente adequado, ou, quando necessário, por meio de clivagem química se a molécula estabelecer ligação covalente com o monômero. Com isso, as cavidades complementares à MM em tamanho e forma são disponibilizadas, com a capacidade de reconhecer seletivamente a molécula alvo. As etapas descritas são ilustradas na **Figura 1.2** (Tamayo; Turiel; Martín-Esteban, 2007). Os polímeros impressos resultantes são materiais estáveis, dependendo da abordagem de preparo são resistentes a uma ampla faixa de pH, solventes e temperatura. Além disso, os MIPs podem simular receptores naturais, como anticorpos, porém sem as limitações de estabilidade associadas, sendo considerados materiais biomiméticos. (Ashutosh; Lokman, 2017).



**Figura 1.2**– Esquema representativo das etapas na síntese do MIP: (A) pré-polimerização, (B) polimerização, (C) remoção da molécula molde, (D) religação da molécula molde. Fonte: (Silva *et al.*, 2022b).

Três métodos distintos foram descritos para a síntese de MIPs: abordagens covalentes, não-covalentes e semicovalentes. Wulff e Sarhan (1972 *apud* Ashutosh Tiwari; Lokman Uzun, 2017) apresentaram a abordagem covalente, que implica a formação de ligações covalentes reversíveis entre a MM e os MFs antes da polimerização. Logo depois, a MM é removida do polímero por meio da quebra das ligações covalentes correspondentes, as quais são reestabelecidas com a religação do analito. A estabilidade na interação entre MM e MF resulta em uma população de sítios de ligação bastante homogênea, minimizando a presença de sítios não-específicos. Porém, a complexidade em projetar um complexo MM-MF apropriado, no qual a formação e a quebra da ligação covalente sejam prontamente reversíveis sob condições brandas, limita consideravelmente essa abordagem (Turiel; Martín-Esteban, 2010); (Spivak, 2005).

A abordagem não-covalente foi introduzida por Mosbach e Arshady (1981 *apud* Turiel; Martín-Esteban, 2019) e, atualmente, é bastante empregada na preparação de MIPs. Essa abordagem fundamenta-se na formação de interações não-covalentes, como ligações de hidrogênio e interações iônicas, entre a MM e os MFs selecionados antes da etapa de polimerização (Santos *et al.*, 2012). O procedimento experimental é relativamente simples, e uma ampla variedade de monômeros capazes de interagir

com praticamente qualquer tipo de molécula modelo está disponível comercialmente (Cormack; Elorza, 2004). No entanto, essa abordagem não está isenta de algumas limitações, uma vez que as interações MM-MF são estabelecidas por um processo de equilíbrio durante a etapa pré-polimerização. Portanto, para favorecer a formação do complexo MM-MF, é necessário empregar uma quantidade considerável de MF (Sellergren, 1997). Isso resulta na incorporação aleatória de excesso de MFs livres na matriz polimérica, resultando também na formação de sítios de ligação não-seletivos e assim oferecem uma menor seletividade quando comparados àqueles que foram obtidos pela síntese covalente (Martín-Esteban, A., 2013); (Kryscio; Peppas, 2012).

Uma opção intermediária, unindo as vantagens que estas duas abordagens oferecem, é a preparação semicovalente. Neste caso, o processo de polimerização ocorre por ligação covalente da MM ao MF, sendo posteriormente removido por meio de hidrólise. Já a religação da MM é baseada apenas em interações não-covalentes, facilitando assim o processo de eluição. As vantagens das interações semicovalentes incluem a associação dos grupos funcionais dos monômeros à MM, facilitando a sua religação às cavidades seletivas. No entanto, a abordagem semicovalente é limitada em suas aplicações devido ao número restrito de monômeros adequados (Ashutosh Tiwari; Lokman Uzun, 2017); (Malik *et al.*, 2019). Na **Tabela 1.1.** alguns dos principais métodos aplicados para impressão molecular de polímeros foram listados.

**Tabela 1.1–** Comparação dos principais procedimentos de preparo de MIPs (continua).

Procedimento de preparo	Vantagens	Desvantagens	REF.
<b>Polimerização “bulk”</b>	Rapidez e simplicidade no preparo (instrumentação); pureza nos MIPs produzidos;	Necessário moagem e peneiramento; partículas irregulares; sítios de baixa afinidade;	(Sirumapea <i>et al.</i> , 2021)
<b>Polimerização em suspensão</b>	Processo simples com uma etapa de polimerização; partículas esféricas;	Partículas grandes; baixo reconhecimento da MM;	(Dourado <i>et al.</i> , 2021)
<b>Polimerização em emulsão</b>	Partículas poliméricas monodispersas de alto rendimento; polímeros solúveis em água;	Resquícios de surfactantes pós reação; baixa capacidade de impressão;	(Liu, Y. <i>et al.</i> , 2016)

**Tabela 1.1– Comparação dos principais procedimentos de preparo de MIPs (conclusão).**

<b>Procedimento de preparo</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>	<b>REF.</b>
<b>Polimerização por nucleação</b>	Partículas esféricas regulares e monodispersas; resistência mecânica;	Processo lento;	(Lai <i>et al.</i> , 2007)
<b>Polimerização por precipitação</b>	Uma única etapa preparatória; partículas esféricas e uniformes; Facilidade de fabricação em temperatura ambiente; solventes ambientalmente amigáveis;	Quantidade alta de MM; alto fator de diluição;	(Ma <i>et al.</i> , 2018)
<b>Sol-gel</b>		Limitação dos reagentes de polimerização;	(Zhou <i>et al.</i> , 2019)

Fonte: adaptado (Chen *et al.*, 2016)

## 1.2 Aplicações de MIPs: estado da arte

Os MIPs são versáteis e podem ser aplicados no desenvolvimento de métodos analíticos, proporcionando um ganho em seletividade e sensibilidade em diferentes contextos. Alguns empregos dos MIPs estão listados no **Quadro 1.1**. Esses exemplos ilustram a pluralidade e aplicabilidade do MIPs com uma ampla gama de técnicas analíticas, tornando-os valiosos em diversas áreas de aplicação, desde a medicina até a análise ambiental.

**Quadro 1.1– Aplicações dos MIPs em diversas áreas (continua).**

<b>Aplicação</b>	<b>Função dos MIPs</b>	<b>REF.</b>
<b>Cromatografia Líquida e Gasosa</b>	Utilizados como materiais de fase estacionária em cromatografia líquida e gasosa, proporcionando separação seletiva de analitos	(Santos, M. G. <i>et al.</i> , 2012)
<b>Sensores Químicos</b>	Incorporação em sensores para detecção de analitos, seja por técnicas ópticas, eletroquímicas ou de impedância	(Wang, Y. F. <i>et al.</i> , 2020)
<b>Extração em Fase Sólida</b>	Empregados como sorventes em métodos de extração, melhorando a seletividade na preparação de amostras	(Jayasinghe; Moreda-Piñeiro, 2021)
<b>Imunoensaios Moleculares</b>	Empregados como substitutos sintéticos de anticorpos em imunoensaios, melhorando a estabilidade e custo	(Wang, J. <i>et al.</i> , 2019)

**Quadro 1.1–** Aplicações dos MIPs em diversas áreas(conclusão).

<b>Aplicação</b>	<b>Função dos MIPs</b>	<b>REF.</b>
<b>Reconhecimento Molecular</b>	Utilizados em estudos de interações moleculares, contribuindo para a compreensão de processos de reconhecimento molecular	(Vaneckova <i>et al.</i> , 2020)
<b>Técnicas de Microfluídica</b>	Incorporados em sistemas microfluídicos para detecção rápida e eficiente de analitos em pequenas quantidades de amostras	(Wang, Y. <i>et al.</i> , 2013)
<b>Separação e Purificação</b>	Empregados em métodos de separação e purificação, proporcionando uma alternativa seletiva a resinas convencionais	(Turiel; Martín-Esteban, 2010)
<b>Sensores de Gases e Vapores</b>	Aplicados em sensores para detecção de gases e vapores, com aplicações em monitoramento ambiental e industrial	(Hua; Ahmadi; Kim, 2022)
<b>Nanomateriais</b>	Nanopartículas inorgânicas revestidas com polímeros impressos molecularmente: fabricação e aplicações biomédicas	(Orbay <i>et al.</i> , 2022)

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2024).

Considerando esses aspectos e a versatilidade destes materiais, a presente tese de doutorado teve como foco explorar dois procedimentos de síntese de MIPs: polimerização via *bulk* e polimerização sol-gel utilizando uma estratégia *one-pot* de preparo. Além destas sínteses, apresentar um método alternativo via *polymerization-free*. Dessa forma, este trabalho foi dividido em três capítulos, o primeiro trata da aplicação de MIP como uma fase sólida extratora para pré-concentração de escopolamina. O segundo capítulo aborda o preparo de um sensor para captopril, a partir de um polímero molecularmente impresso fluorescente. O terceiro capítulo apresenta os estudos preliminares para desenvolvimento de MIPs em papel. Em cada um dos capítulos foi abordado os impactos e relevância dos analitos, bem como a descrição do preparo dos MIPs.



## 2 SÍNTESE DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (MISPE) DE ESCOPOLAMINA EM AMOSTRAS DE URINA SINTÉTICA

### 2.1 Introdução

A determinação de fármacos e drogas de abuso em fluidos corporais tem se mostrado importante em diversos cenários, como controle *antidoping* em atletas, monitoramento de drogas terapêuticas, toxicologia forense e clínica, bem como pesquisas relacionadas à farmacologia. Drogas de abuso é um termo aplicável a substâncias para fins não terapêuticos, ou uso impróprio de substâncias prescritas. As drogas de abuso são usadas tanto para consumo próprio quanto para a dopagem de vítimas devido a seus efeitos alucinógenos (Mulder; Halquist, 2021).

A escopolamina (SCP) é um alcaloide tropânico com efeitos sedativos, anticonvulsivos e analgésicos. Quando utilizada como droga de abuso, pode prejudicar temporariamente a habilidade de absorver novas informações, de concentração, podendo gerar alucinações visuais e auditivas, caracterizados por um estado de embriaguez, seguido de um sono profundo acompanhado de amnésia. Algumas substâncias – como a escopolamina – quando misturadas intencionalmente a bebidas alcoólicas são conhecidas popularmente como “Boa Noite Cinderela”, ato que causa a dopagem de vítimas para fins de assalto ou abuso sexual (Martinez; Almeida, 2009). O número de casos do golpe é crescente, em especial ao público feminino, LGBTQIA+ e homens susceptíveis a furto (Le Garff *et al.*, 2016); (Sáiz *et al.*, 2013). Ainda não há estudos que validam uma dose letal de SCP à organismos adultos, mas já existem alguns casos clínicos onde massas acima de 2 mg de escopolamina são suficientes para causar envenenamento com sintomas graves em adultos (Corallo; Whitfield; Wu, 2009).

Tanto as drogas de abuso e seus resíduos metabólicos, quanto fármacos em geral, podem ser determinados por meio da aplicação de diversos tipos de métodos analíticos que apresentam diferentes graus de automação, seletividade e detectabilidade. As principais dificuldades encontradas na determinação de analitos em concentração traço estão relacionadas com aspectos de seletividade e detectabilidade fornecidas pelo método aplicado (Boone *et al.*, 1999). As amostras biológicas em que resíduos de escopolamina podem ser encontradas e são comumente analisadas são: urina (Silva *et al.*, 2017), cabelo (Tagliaro *et al.*, 1998),

soro (Soldin *et al.*, 2005), saliva (Bista *et al.*, 2014) e sangue (Forteschi *et al.*, 2014). A coleta desses tipos de amostras é relativamente simples e o volume amostral disponível é relativamente alto. Vários métodos são encontrados na literatura com a finalidade de separação e quantificação de alcaloides tropânicos em matrizes complexas, como a eletroforese capilar (do inglês *Capillary Electrophoresis* - CE) (Cherkaoui *et al.*, 1997), cromatografia de camada delgada (do inglês *Thin-Layer Chromatography* - TLC) (Gadzikowska *et al.*, 2005) e HPLC (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) (Min *et al.*, 2007) acoplada a detectores de absorção no UV (Theodoridis *et al.*, 2003) e espectrometria de massas (Zeng *et al.*, 2015). Além da baixa concentração dos analitos, as matrizes biológicas têm em sua composição quantidades significativas de proteínas, carboidratos e lipídeos, além de outras moléculas menores com diversas polaridades, ou seja, possuem uma variedade de constituintes que são possíveis interferentes. Portanto é necessário o emprego de técnicas de preparo de amostra seletivas para o composto de interesse (Borges; De Figueiredo; Queiroz, 2015).

A determinação de analitos presentes em baixas concentrações em amostras complexas requisita muito cuidado, desde o processo de amostragem até o processamento final dos dados. Visto que, erros podem ser introduzidos nas diferentes etapas, os quais propagados comprometem a confiabilidade do resultado analítico final (Hu *et al.*, 2021). Apesar da evolução das técnicas analíticas nas últimas décadas, as etapas de preparo de amostra envolvendo extração e pré-concentração ainda são de extrema importância, especialmente envolvendo amostras complexas com baixos níveis de concentração do analito (Fumes *et al.*, 2015).

### **2.1.1 Preparo de amostras**

O preparo de amostras é uma etapa importante na sequência analítica e se faz necessária na análise de diversas matrizes, como alimentos e amostras biológicas. Esta etapa visa remover potenciais interferentes da amostra e isolar os analitos antes de sua determinação por alguma técnica analítica (Fumes *et al.*, 2015). Estima-se que a maior parte do tempo despendido em uma análise química corresponda à etapa de preparo de amostra, sendo a mais morosa de todo o processo analítico (Hu, T. *et al.*, 2021); (Krug; Rocha, 2019). Muitos são os métodos comumente aplicados na etapa de preparo de amostras, como extração em fase sólida (do inglês *Solid-Phase Extraction* - SPE) (Eskandari; Shariati, 2011), microextração em fase sólida (do inglês

*Solid-Phase Microextraction* - SPME) (Vázquez; Mughari; Galera, 2008), extração líquido-líquido (do inglês *Liquid-Liquid Extraction* - LLE) (Yu *et al.*, 2017), extração por fluido supercrítico (do inglês *Supercritical Fluid Extraction* - SFE) (Rissato *et al.*, 2004), microextração líquido-líquido (do inglês *Liquid-Liquid Microextraction* - LLME) (Rezaee *et al.*, 2006) e filtração (Bizzotto *et al.*, 2013).

A SPE é uma das técnicas de preparo de amostra mais empregada previamente a análises cromatográficas. Introduzida na década de 70, se tornou um dos substitutos mais viáveis para a LLE (Fumes *et al.*, 2015). A remoção de interferentes e a pré-concentração dos analitos por SPE ocorre a partir da passagem da amostra por uma fase extratora (FE), essa fase extratora é formada normalmente por um sólido, dentro de um cartucho ou coluna. A interação entre FE e analito pode ocorrer através de diferentes mecanismos, como adsorção, troca iônica, exclusão e partição.

A SPE possui a vantagem de realizar dois processos importantes, como a limpeza da amostra (*clean-up*) e a pré-concentração dos analitos. A natureza da FE é um fator importante na eficiência da SPE, uma vez que suas propriedades definem quais espécies terão afinidade pela FE, afetando assim a seletividade do procedimento de extração. Com isso, a busca por novos materiais para SPE vem atraindo a atenção de diversos pesquisadores. De acordo com Fritz (1999) existem três condições que o material sorvente deve obedecer: (i) uma quantidade alta e reproduzível deve ser extraída pelo sólido componente da FE; (ii) os analitos após a adsorção à FE, devem ser facilmente eluídos por um solvente ou solução, ou seja, o processo de adsorção deve ser reversível; (iii) o sólido deve ser poroso com uma grande área superficial, livre de impurezas e apresentar boa estabilidade perante a matriz e os solventes de eluição utilizados.

Neste contexto, uma proposta para a melhoria no desempenho da SPE são os polímeros molecularmente impressos, os quais visam aumentar de forma significativa a seletividade das FE, essa combinação chamada de MISPE (do inglês *Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction*).

### **2.1.2 Extração em fase sólida empregando polímeros molecularmente impressos - MISPE**

MIPs representaram um avanço importante nas técnicas de preparo de amostras; a técnica de impressão molecular é capaz de produzir polímeros com sítios

de reconhecimento molecular, preparados a partir de uma molécula molde ou molécula alvo. Assim, possuem a capacidade de reconhecer e se ligar ao analito desejado. Além da alta seletividade, o MIP apresenta características como: estabilidade química e térmica, boa capacidade de adsorção, ampla faixa de pH de trabalho e resistência a altas temperaturas (Ashutosh Tiwari; Lokman Uzun, 2017).

Os procedimentos envolvendo MISPE não diferem de outros procedimentos de SPE. Normalmente, uma pequena quantidade (15-500 mg) de MIP é embalada em cartuchos de polietileno e, em seguida, realiza-se as etapas de condicionamento, extração e eluição do analito. Posteriormente, o analito é quantificado de acordo com a técnica analítica disponível. Há diversos artigos publicados descrevendo a síntese e o uso de MIPs para SPE, como: aplicação na extração e determinação de taninos condensados – MISPE/HPLC-UV (Martins *et al.*, 2020); determinação de fenilalanina – MISPE/UV-vis (Alves *et al.*, 2015); extração e quantificação do corante *acid green 16* - MISPE/UV-vis (Foguel *et al.*, 2017). Além disso, algumas empresas já comercializam cartuchos embalados com MIPs adequados para a determinação de analitos em diferentes amostras (Lowdon *et al.*, 2020).

A estratégia de síntese de um MIP para uma aplicação específica depende de muitas etapas experimentais, incluindo: escolha dos reagentes, a preparação do material, a avaliação do seu desempenho seletivo na extração. Isso faz com que o planejamento e o desenvolvimento do MIP sejam morosos e utilizem grandes quantidades de solventes e soluções. Com o desenvolvimento da química computacional, iniciou-se o emprego da computação quântica para otimizar a síntese de MIPs em função da aplicação pretendida (Dong *et al.*, 2005). A utilização de uma abordagem computacional para otimização da impressão molecular já foi apresentada em diferentes trabalhos (Fonseca; Nascimento; Borges, 2016; Gupta; Shah; Singh, 2016; Pogány; Razali; Szekely, 2017; Tabandeh *et al.*, 2012) e a maioria dos estudos computacionais focam na triagem rápida do melhor MF.

Apesar da diversidade de direções sugeridas pelas simulações, não há consenso sobre a melhor forma de modelar as interações em um sistema de impressão molecular, nem sobre o melhor método para descrevê-lo matematicamente (Cowen; Karim; Piletsky, 2016; Nicholls *et al.*, 2009; Soté, 2022) . Torna-se assim, uma escolha baseada no parâmetro empírico a ser investigado pelo pesquisador. Considerando que as formações das interações não-covalentes presentes no sistema pré-polimerização são dinâmicas e que o solvente atua como elemento ativo na

formação da rede polimérica, um dos métodos de simulação computacional capaz de avaliar o dinamismo das interações entre um elevado número de componentes é a Dinâmica Molecular (DM) clássica. A DM descreve o movimento de átomos a partir do formalismo das mecânicas clássica e estatística, fornece informações sobre o comportamento dinâmico microscópico, dependente do tempo, dos átomos individuais que compõem o sistema (Namba; Silva; Silva, 2008). Para tanto, considera-se que as alterações conformacionais moleculares sejam decorrentes somente de interações que não envolvam a participação de partículas subatômicas (Alder; Wainwright, 1959). Ao se desconsiderar os princípios que regem a dinâmica dos elétrons, pode-se descrever simultaneamente um elevado número de átomos com uma demanda computacional relativamente reduzida e amostrar processos conformacionais e energéticos, descritos somente por potenciais não-covalentes, a partir de conjuntos termodinâmicos definidos (Alder; Wainwright, 1959; Soté, 2022). As moléculas simuladas neste trabalho foram os monômeros funcionais: ácido acrílico (AAC), ácido metacrílico (MAA) e acrilamida (ACR), o agente de ligação cruzada dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA) e a molécula molde escopolamina.

### 2.1.3 Extração em ponteira descartável

A miniaturização no preparo de amostras vem apresentando grandes avanços em relação aos princípios da Química Analítica Verde. Muitos desses aspectos são aplicados, como a redução de grandes volumes (amostra/solvente), que além de gerar menor quantidade de resíduos também envolve menor consumo de energia em todo o processo (Carasek; Morés; Huelsmann, 2022). Uma possibilidade de miniaturização no preparado de amostras é a variação da SPE tradicional para extração com ponta de pipeta descartável (do inglês *Disposable Pipette Extraction* - DPX), na qual emprega-se volumes menores de amostra e massa reduzida de fase sólida (Bordin *et al.*, 2016).

A DPX permite a extração rápida do analito e soluções usando ponteiras descartáveis ao invés de cartuchos ou tubos de ensaio (Tomasin *et al.*, 2021). A técnica consiste na modificação de uma ponteira de pipeta (1,0 ou 5,0 mL), onde uma pequena quantidade do sólido sorvente está contida entre dois filtros (geralmente lã de vidro). Na DPX, as amostras são misturadas com o sorvente disperso para proporcionar equilíbrio rápido pelo contato efetivo entre eles (Silva *et al.*, 2022a).

A DPX tem sido comumente usada na preparação de amostras para diferentes aplicações, tais como a toxicologia forense e química. Bordin e colaboradores (2014), identificaram a presença de cocaína, nicotina e metabólitos em amostras de mecônio usando DPX e como técnica de quantificação a cromatografia gasosa com detecção de espectrometria de massas (do inglês *Gas Chromatography-Mass Spectrometry - GC-MS*) (Bordin *et al.*, 2014). Entretanto, como a DPX é uma técnica relativamente nova, a quantidade de fases extratoras comercialmente disponíveis e o alto custo em relação aos cartuchos de fase sólida tradicionais representam uma limitação para sua aplicabilidade em análises de rotina (Bordin *et al.*, 2016). Portanto, desenvolver fases sólidas para aplicação em DPX sugere um campo promissor, principalmente sorventes seletivos como os MIPs. Pelo exposto, a proposta deste trabalho foi combinar MIP-DPX (i.e. MISPE) para determinação de escopolamina em amostras de urina sintética.

#### **2.1.4 Eletroforese Capilar (CE)**

A eletroforese é uma técnica de separação desenvolvida no século XX, por Arne Tiselius, em meio à necessidade de estudo de proteínas em soro recém-descobertas na época. O fenômeno da eletroforese consiste na migração de espécies iônicas ou ionizáveis, quando estas estão dissolvidas ou suspensas em um eletrólito, a partir da aplicação de um campo elétrico (Skoog, *et al.* 2006). Utilizando o fenômeno da eletroforese, a técnica instrumental de eletroforese capilar (do inglês *Capillary Electrophoresis - CE*) foi desenvolvida, onde a separação ocorre dentro de capilares com dimensões micrométricas e que permitem a aplicação de altas voltagens. A CE é adequada na separação e determinação de analitos de forma similar à cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa, cromatografia iônica e eletroforese em placas de gel, quando acoplados às técnicas de detecção. Com aplicações bioquímicas, clínicas, ambientais, alimentares, forenses e farmacêuticas (Ahuja; Jimidar, 2008; El-Attug; Adams; Van Schepdael, 2012; Forteschi *et al.*, 2014), englobando compostos orgânicos iônicos e não iônicos, inorgânicos iônicos e não-iônicos e macromoléculas (tais como proteínas e oligonucleotídeos e compostos quirais); (Oliveira *et al.*, 2014; Lourenço *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2016). Outras vantagens que a tornam a técnica de CE tão atrativa são (Cunha, 2017):

- ✓ Possibilidade de automação;
- ✓ Injeção direta sem pré-tratamento das amostras;

- ✓ Pequenas quantidades utilizadas de padrão e amostra, volumes tipicamente da ordem de 1 a 10 nL, diminuindo a geração de resíduos;
- ✓ O principal solvente utilizado na composição do eletrólito é a água;
- ✓ Versatilidade: uma única coluna capilar pode ser utilizada na separação de classes de compostos completamente diferentes, sendo preciso apenas a variação do meio interno do capilar, o adequando para determinadas corridas;
- ✓ Possibilidade de injeção e detecção em fluxo;
- ✓ Baixo custo do equipamento e manutenção;
- ✓ Tempo de análise reduzido quando comparada a qualquer técnica de separação.

A CE oferece muitas vantagens sobre os outros meios utilizados para eletroforese (placas de gel, papel, etc.), pois a alta resistência do capilar comumente usados (tubos de sílica fundida cobertos com poliamida) possibilita o estabelecimento de campos elétricos de valores elevados ( $100\text{-}1000\text{ V cm}^{-1}$ ), resultando em análises com separações de alta eficiência e tempos de análise apreciavelmente curtos (Spudeit; Dolzan; Micke, 2012).

Como qualquer técnica, CE possui desvantagens. Como limitações na capacidade de separação de compostos com similaridades estruturais. A reprodutibilidade dos resultados na CE pode ser afetada, pela temperatura, pH, composição do tampão. Nestes quesitos, a HPLC tem um desempenho melhor (Bizzotto *et al.*, 2013). No caso particular da CE equipada com um detector  $C^4D$  (Silva; Lago, 1998; Lago, 2009; Zemmann *et al.*, 1998), os limites de detecção (LOD) estão na ordem de  $10^{-5}$  a  $10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$ , se não for introduzido a etapa de pré-concentração (SPE) exclui a possibilidade de analisar elementos traços, limitando a variedade de matrizes de aplicação da mesma (Cunha, 2017).

## **2.2 Objetivos**

### **2.2.1 Objetivo geral**

Tendo em vista que o desenvolvimento de polímeros molecularmente impressos representa um avanço importante no preparo de amostras, o presente trabalho tem como objetivo geral sintetizar um MIP para extração e pré-concentração de escopolamina empregando ferramentas computacionais para otimizar as condições de síntese e a eletroforese capilar como técnica de quantificação.

### 2.2.2 Objetivos específicos

- i. Empregar ferramenta computacional para investigar o melhor monômero funcional na preparação de MIPs;
- ii. Sintetizar via *bulk* e caracterizar o melhor MIP;
- iii. Avaliar a capacidade de adsorção do MIP obtido;
- iv. Combinar o MIP como FE em ponteira descartável – DPX;
- v. Verificar a seletividade do MIP com moléculas análogas a escopolamina;
- vi. Otimizar as condições de extração e eluição da escopolamina utilizando planejamento fatorial de experimentos;
- vii. Desenvolver um método analítico utilizando eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato empregando o dispositivo MIP-DPX desenvolvido para extração e pré-concentração de escopolamina em amostras de urina sintética.

## 2.3 Materiais e métodos

### 2.3.1 Reagentes e soluções

Para a síntese dos polímeros foram utilizados: bromidrato de escopolamina (99%, SCP) como molécula molde; ácido acrílico (98%, AAC), acrilamida (98%, ACR), ácido metacrílico (99%, MAA) como monômeros funcionais; 1,1'-azobis(ciclohexanocarbonitrila) (99%, ABCN) como iniciador radicalar; dimetacrilato de etilenoglicol (99%, EGDMA) como agente de ligação cruzada, todos adquiridos da Sigma-Aldrich (Merk KGaA, Darmstadt, Alemanha). O metanol como solvente porogênico e ácido acético como solvente de remoção da molécula molde foram adquiridos, respectivamente, da NEON (São Paulo, Brasil) e da Dinâmica (São Paulo, Brasil).

Outros reagentes, tais como a atropina (99%), ácido butírico (99%) foram obtidos também da Sigma-Aldrich (Merk KGaA, Darmstadt, Alemanha). O padrão de butilbrometo de escopolamina foi adquirido em uma farmácia de manipulação da região. As soluções estoques foram preparadas usando água deionizada de um sistema Milli-Q (Millipore, Molsheim, França).

Para os experimentos utilizando a eletroforese capilar, a solução utilizada como eletrólito de corrida (do inglês *Background Electrolyte* - BGE) foi preparada solubilizando 20 mmol de ácido butírico (99% de pureza, Sigma-Aldrich, Merk KGaA,



Darmstadt, Alemanha), 7 mmol de NaOH (Vetec, Duque de Caixas, Brasil) em 10,00 mL de água deionizada em um balão volumétrico, pH 4,5.

Os reagentes empregados para o preparo da urina sintética, como ácido cítrico (99%), ácido ascórbico (99%) e sulfato de sódio (99%) foram adquiridos da Vetec (Duque de Caixas, Brasil). O bicarbonato de sódio (99%), cloreto de cálcio di-hidratado (78%), cloreto de sódio (99%), cloreto de amônio (99%) foram obtidos da Synth (Diadema, Brasil). Já o hidrogenofosfato de potássio (99%) e di-hidrogenofosfato de potássio (99%) foram obtidos da Merck (Darmestádio, Alemanha). Por fim, a ureia (99%), ácido úrico (99%), sulfato de magnésio hepta-hidratado (99%) foram adquiridos, respectivamente da Dinâmica (São Paulo, Brasil), Sigma-Aldrich (Saint Louis, EUA) e Neon (São Paulo, Brasil).

### 2.3.2 Instrumentação

Os polímeros foram lavados com metanol e separados em uma centrifuga da marca Kindly, modelo KC5. Outra etapa de lavagem ocorreu no sistema Soxhlet e os solventes utilizados na remoção foram avaliados utilizando um espectrofotômetro UV – Vis da marca Thermo Scientific, modelo Genesys 10S. Utilizou-se cubetas de quartzo com 1 cm de caminho óptico e obteve-se o espectro de absorção na região do UV-VIS. As determinações de bromidrato de escopolamina (SCP, ou apenas escopolamina), atropina, butilbrometo de escopolamina, foram realizadas pela técnica de eletroforese capilar. O equipamento utilizado é equipado com dois detectores C<sup>4</sup>D. Os detectores foram posicionados a 10 cm (comprimento efetivo – primeiro detector) e 40 cm (comprimento efetivo – segundo detector) ao longo da coluna capilar de sílica fundida com comprimento total de 50 cm. O capilar foi mantido termostatizado a 25°C. Uma voltagem constante de 20 kV foi aplicada durante a corrida eletroforética. O modo hidrodinâmico foi selecionado para injetar a amostra no capilar a 25 kPa por 2,0 s. Rotineiramente, antes da primeira análise, o capilar de sílica foi lavado com água deionizada por 500 s, com 1,0 mol L<sup>-1</sup> de NaOH por 500 s, novamente com água deionizada por mais 500 s e, finalmente, com o BGE por 500 s (Ribeiro *et al.*, 2022).

Quando necessário, o ajuste de pH das amostras e das soluções de trabalho, foi utilizado um pHmetro da marca Kasvi, modelo K39-1420 A e soluções de NaOH e HCl, ambas 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Além dos instrumentos citados, ainda foram utilizados para os ensaios de adsorção a mesa Agitadora Orbital TE-141 – Tecnal; balança analítica - GEHAKA - Modelo AG200; ultrassom da marca Ultronique, modelo Q3.0.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro FT-IR Frontier Single Range – MIR da Perkin Elmer, na região compreendida entre 4000 e 500  $\text{cm}^{-1}$ . As análises das amostras foram feitas no estado sólido, com a utilização do acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante. O espectrofotômetro utilizado pertence ao Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT) localizado no Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM) do Instituto de Química da UFU.

Análises morfológicas envolvendo microscopia eletrônica de varredura foram realizadas no Laboratório de Multiusuários do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (LMIQ – UFU). As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram adquiridas em um microscópio Tescan modelo VEGA3 equipado com um detector de espectroscopia de energia dispersiva de raios X (do inglês *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy* – EDS) . Antes das análises as amostras foram recobertas com ouro, aplicando - se uma voltagem de aceleração de 5.0 kV e a magnificações escolhidas foram 5000x e 10000x.

A área de superficial, tamanho e volume de poro das partículas foram determinados por isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio usando o analisador de área de superfície e tamanho de poro Novatouch LX1 (Quantachrome GmbH and Co. KG). As isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio foram coletadas após degaseificação das amostras a 140 °C sob vácuo por 3 h. A área superficial específica foi calculada usando a teoria de Brunauer–Emmett–Teller (BET), enquanto o método de Barrett–Joyner–Halend (BJH) foi usado para determinar os volumes dos poros e a distribuição do tamanho dos poros. As análises foram realizadas no Grupo de Química de Materiais Inorgânicos Nanoestruturados do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (GQMIN – UFU).

### 2.3.3 Estudo teórico

A aplicação de uma abordagem computacional aliada à tecnologia de impressão molecular foi apresentada previamente em diferentes trabalhos (Bitar *et al.*, 2015; Maouche *et al.*, 2015; Wong *et al.*, 2015). A maioria dos estudos computacionais focam na triagem rápida do melhor monômero funcional (Silva *et al.*, 2022b), pois isto auxilia na escolha dos melhores reagentes para o desenvolvimento de um MIP, diminuindo com isso algumas etapas experimentais. Para compreender as propriedades de interação do MIP ao nível molecular, simulações de dinâmica

molecular foram realizadas usando o pacote GROMACS 2016.4 (Abraham *et al.*, 2015) e o campo de força OPLS (do inglês *Optimized Potentials for Liquid Simulations*) de todos os átomos (Jorgensen; Maxwell; Tirado-Rives, 1996). A dinâmica molecular (DM) é capaz de descrever o movimento de átomos no espaço utilizando o formalismo mecânico clássico. Em virtude desse tipo de descrição, considera-se que as alterações conformacionais moleculares sejam decorrentes somente de interações físicas no sistema e não eletrônicas (Soté, 2022).

Estruturas moleculares individuais foram obtidos via LigParGen, *Webserver* gerador de parâmetros de ligantes orgânicos (Dodda *et al.*, 2017). O arranjo inicial do sistema foi construído usando a ferramenta PACKMOL (Martínez *et al.*, 2009). Os sistemas foram colocados dentro de caixas de simulação cúbicas individuais, o centro de massa da SCP em uma origem arbitrária e disposta aleatoriamente em torno dele 500, 500 e 1.000 ligantes, reticulantes e moléculas de solvente, respectivamente. O número de moléculas foi selecionado para representar um sistema saturado e para garantir que o molde tivesse contato suficiente para a formação espontânea do complexo de pré-polimerização. O mesmo protocolo foi aplicado para todos os sistemas. Os números totais de átomos nos sistemas simulados foram 24 545, 26 045 e 25 045 para AAC, MAA e ACR, respectivamente (Silva *et al.*, 2022b).

As simulações foram realizadas pelo Ms. William Oliveira Soté, supervisionado pelo Prof. Dr. Moacyr Coma Junior (Laboratório de Modelagem Molecular e Química Computacional – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia).

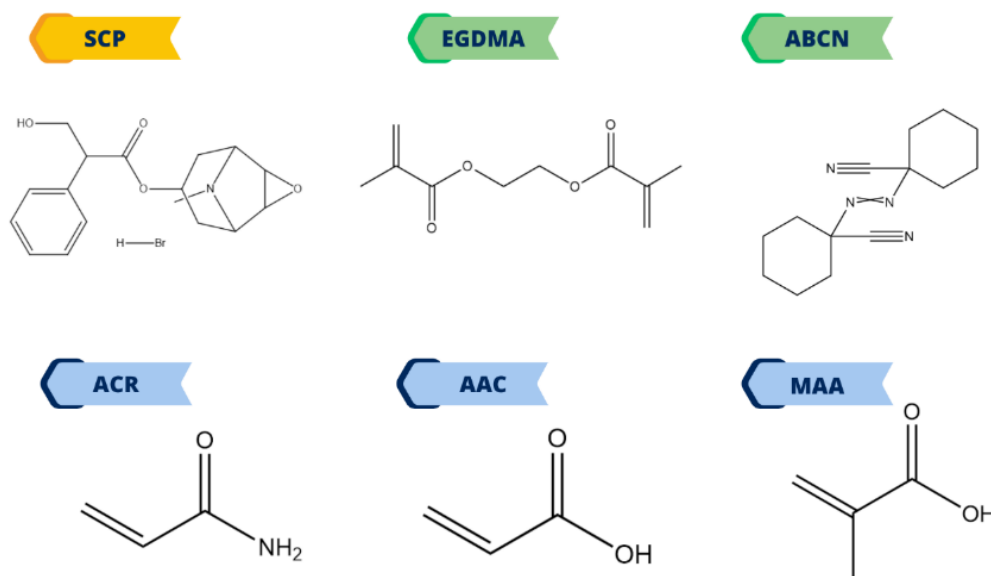
#### 2.3.4 Síntese dos polímeros (MIP/NIP)

Foram realizadas três sínteses de polímeros impressos utilizando bromidrato de escopolamina como molécula molde (MM) e variando o tipo de monômero funcional (MF): acrilamida (ACR), ácido acrílico (AAC) e ácido metacrílico (MAA). A quantidade de cada um dos componentes empregados é mostrada na **Tabela 2.1** e as estruturas dos reagentes estão apresentadas na **Figura 2.1**. Os MIPs foram sintetizados em meio homogêneo, pelo método de polimerização em *bulk*, uma adaptação dos procedimentos realizados por Fogel *et al.* (2017) e O'Mahony *et al.* (2013).

**Tabela 2.1**– Quantidade dos reagentes utilizados nas sínteses

Estequiometria MM: MF	MM (mmol)	MF (mmol)	EGDMA (mmol)	ABCN (mmol)	Metanol (mL)
1:5	0,8	4,0	15,0	0,45	10

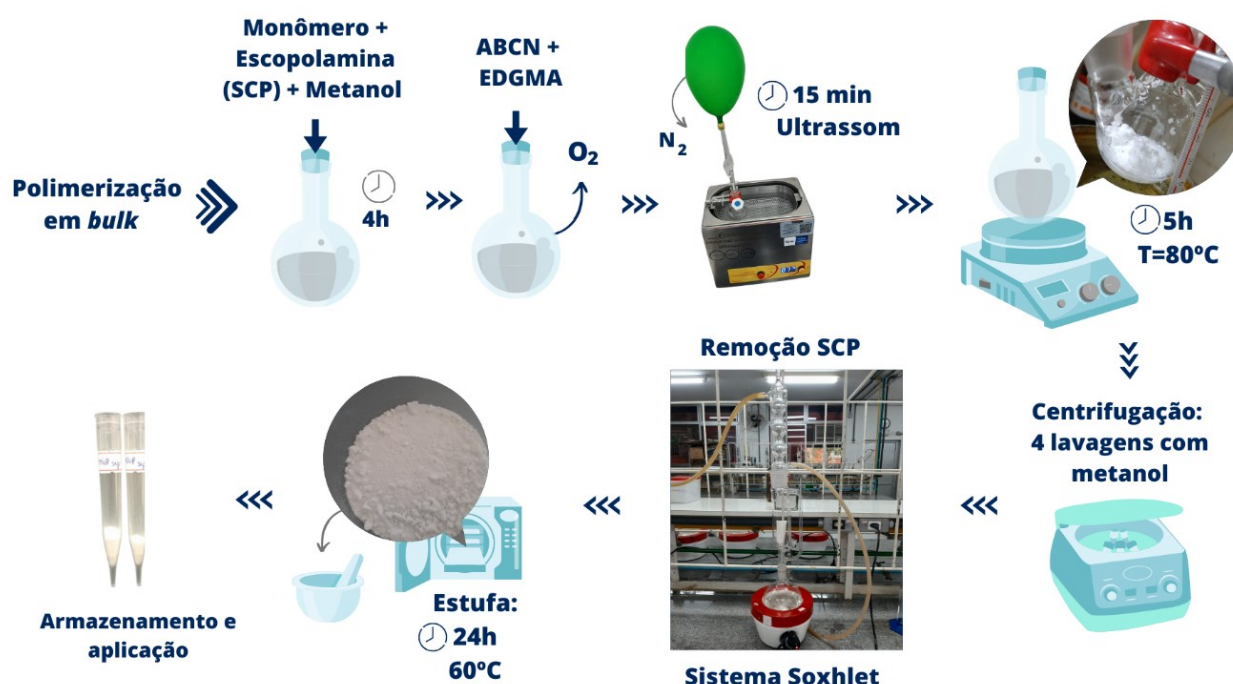
**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).



**Figura 2.1**– Estruturas da molécula molde (SCP), agente de ligação cruzada (EGDMA), iniciador radicalar (ABCN), monômeros funcionais: ACR, AAC e MAA. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

As reações de polimerização foram conduzidas em um balão de fundo redondo vedado, contendo inicialmente a MM, o MF e o metanol como solvente porogênico. Esta mistura foi deixada em repouso, a temperatura ambiente, por 4 horas para contribuir com a interação entre o monômero e a SCP. Após este tempo, o agente de ligação cruzada EGDMA foi acrescentado e o meio reacional foi desareado sob fluxo de N<sub>2</sub> durante 5 minutos. Em seguida, o iniciador radicalar ABCN foi adicionado e a solução foi novamente desareada sob fluxo de N<sub>2</sub> por mais 5 min. Logo depois, a mistura foi levada por 10 min em banho de ultrassom. Depois disso as misturas foram aquecidas durante 6 horas em banho de óleo, seguindo uma rampa de temperatura iniciada em 60° C e finalizada em 80°C. Finalmente, o produto da reação foi transferido para um tubo plástico, lavado com metanol repetidas vezes. Para isso, utilizou-se 10 mL de solvente e centrifugação com 3000 rpm por 10 min. Esta etapa foi repetida por quatro vezes com o objetivo de retirar o excesso de reagentes. As etapas envolvidas na síntese estão esquematizadas na **Figura 2.2**. A síntese do NIP foi realizada seguindo o mesmo procedimento descrito, exceto pela adição da MM. O NIP (do inglês

*Non-imprinted Polymers* - NIP), é utilizado como controle para avaliar a seletividade dos sorventes sintetizados.



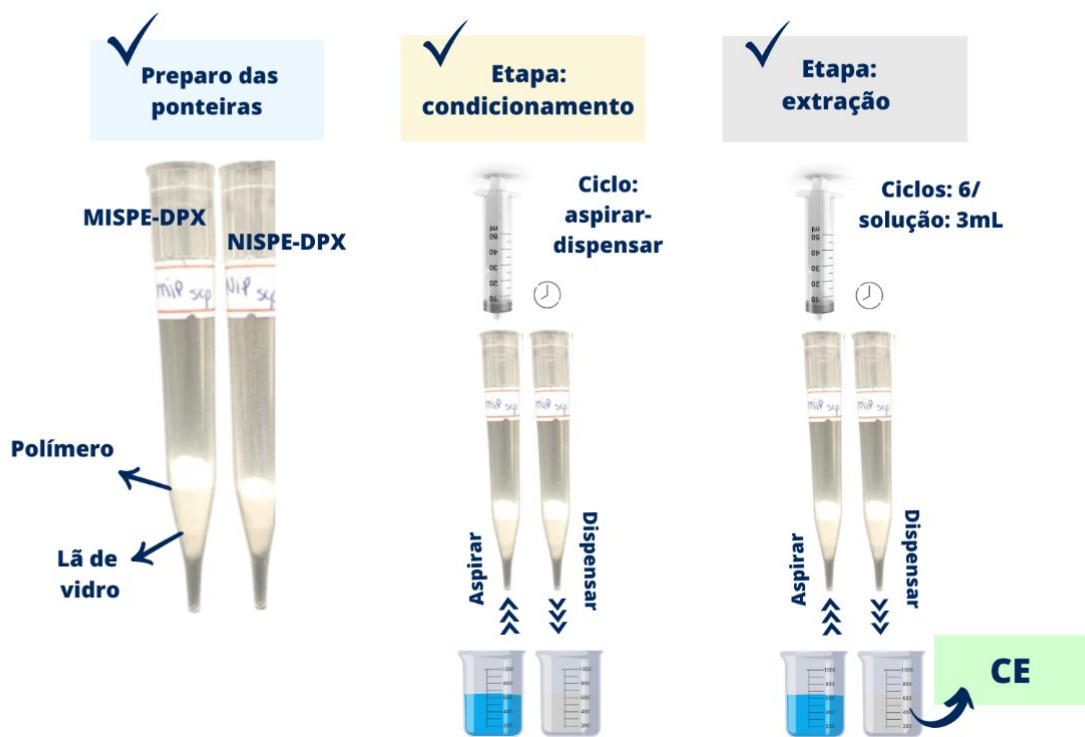
**Figura 2.2**– Fluxograma do preparo dos polímeros MIP/NIP. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Posteriormente, MIP e NIP foram lavados por 24h utilizando um sistema Soxhlet. Primeiro com 400 mL de solução metanol e ácido acético na proporção 9:1 (v/v) (Theodoridis *et al.*, 2003) durante 18h. Em seguida, com 400 mL de metanol por 6h. Para monitorar a remoção da MM, varreduras dos solventes empregados foram realizadas na região do UV-vis. Depois os polímeros foram secos em estufa a 60-70°C por 24h. Após a secagem foram armazenados em um frasco fechado.

### 2.3.5 Avaliação da religação polímero-analito

Para a avaliação da interação entre o polímero e o analito, verificou-se a eficiência de religação da SCP com os polímeros sintetizados. Para isso, utilizou-se a técnica de microextração em ponteiros DPX. Cada dispositivo foi preparado transferindo 20 mg de MIP para uma ponteira descartável (5mL) selada com 30 mg de lã de vidro. Após o preparo, as ponteiros foram condicionadas com solvente e depois utilizadas para extração de SCP em solução. As etapas realizadas estão apresentadas na **Figura 2.3**. A religação foi analisada em diferentes concentrações

de escopolamina: 5, 10, 25 e 50 mg L<sup>-1</sup>. A quantificação de analito residual foi determinada usando o método analítico por CE descrito na seção 2.3.2.



**Figura 2.3**– Esquema representativo das etapas realizadas na extração DPX para avaliação da religação da MM. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Verificada a concentração de SCP remanescente da extração, foi possível determinar a capacidade adsortiva ( $Q$ ) para cada polímero utilizado a partir da Equação 2.1 (Madikizela *et al.*, 2018):

$$Q = \frac{[C_0] - [C_e]}{m} * V, \quad (2.1)$$

Onde:  $C_0$  = concentração inicial da MM (mg L<sup>-1</sup>);  $C_e$  = concentração da MM no equilíbrio (mg L<sup>-1</sup>);  $m$  = massa de fase sólida (g);  $V$  = volume de solução (L).

Em seguida, para a averiguação de qual polímero apresentou a melhor religação com a escopolamina, foi determinado o fator de impressão molecular (FI) (Fernandes, R. S. *et al.*, 2017):

$$FI = \frac{Q_{MIP}}{Q_{NIP}}, \quad (2.2)$$

Onde:  $Q_{MIP}$  e  $Q_{NIP}$  são a capacidade adsortiva do MIP e NIP em  $mg\ g^{-1}$ , respectivamente.

### 2.3.6 Estudo da seletividade

A seletividade do MIP e NIP para moléculas análogas a SCP, tais como atropina e butilbrometo de escopolamina, foi avaliada com soluções padrão de cada analito de concentração de  $50,0\ mg\ L^{-1}$ . Os dispositivos DPX foram preparados com 20 mg de MIP e NIP, seguidos de lavagem com 3 mL de metanol e condicionamento com 3 mL de água. O procedimento de extração foi o mesmo descrito na análise de religação. Em seguida, as capacidades adsortivas ( $Q$ ) foram determinadas para cada molécula de acordo com a Equação 2.1. O fator de impressão para cada uma das moléculas análogas ( $FI_{\alpha}$ ) foi calculado de maneira semelhante ao FI (Equação 2.2). Além disso, o fator de seletividade relativa ( $\beta$ ) foi estabelecido relacionando os valores de fatores de impressão molecular, calculado da seguinte forma (Mortari *et al.*, 2021; Zuo *et al.*, 2019):

$$\beta = \frac{FI_{SCP}}{FI_{\alpha}}, \quad (2.3)$$

Onde:  $FI_{SCP}$  e  $FI_{\alpha}$  são os fatores de impressão molecular para a escopolamina e para as moléculas análogas, respectivamente.

### 2.3.7 Estudo do pH de adsorção

A avaliação de pH foi realizado utilizando o MIP que apresentou melhor desempenho. Para isso, novas ponteiras DPX foram preparadas com MIP/NIP e as etapas executadas foram apresentadas na **Figura 2.3**. As soluções de  $25\ mg\ L^{-1}$  de escopolamina utilizadas tiveram o pH ajustado em 2, 4, 6, 8, 10. A quantidade de SCP residual foi determinada e valores de fator de impressão molecular calculados.

### 2.3.8 Estudo do tempo de adsorção

O tempo de adsorção foi avaliado utilizando um sistema em batelada, com 20 mg de fase sólida (MIP/NIP) e 15 mL de solução de SCP com concentração de  $50\ mg\ L^{-1}$  (pH=6). As misturas foram agitadas por um intervalo de tempo de 1 a 360 min. Posteriormente, cada mistura foi filtrada e os sobrenadantes analisados utilizando o

método analítico com CE. A partir dos resultados obtidos, definiu-se a porcentagem de adsorção em cada uma das condições avaliadas, utilizando a Equação 2.4 (Madikizela; Chimuka, 2016):

$$\% \text{ Adsorção} = \frac{[C_o] - [C_e]}{[C_o]} * 100 \quad (2.4)$$

Onde:  $C_o$  = concentração inicial de SCP ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $C_e$  = concentração de SCP no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );

### 2.3.9 Construção das isotermas de adsorção

As isotermas permitem a determinação da capacidade máxima de adsorção dos polímeros sintetizados. A obtenção das isotermas foram realizadas em experimentos em batelada. Para isso, adicionou-se 15,0 mL de solução de SCP com concentrações crescentes de 20 a 100  $\text{mg L}^{-1}$  ( $\text{pH}=6$ ) a 20 mg de polímero (MIP/NIP) e submetidos a agitação por 60 min. A mistura foi filtrada e o sobrenadante foi injetado no equipamento de CE, os dados obtidos foram ajustados nos modelos de isotermas de Langmuir e Freundlich.

### 2.3.10 Estudo univariado do condicionamento da fase sólida

O condicionamento prévio da fase sólida pode ser feito com o solvente da síntese para a ativação dos sítios ativos ou pode ser realizada com água deixando o sorvente nas mesmas condições da amostra. Para se obter a melhor condição de interação entre analito e o MIP, o estudo do condicionamento foi executado na DPX utilizando 2 ciclos de condicionamento. Avaliou-se a eficiência do condicionamento com 3 mL de água (100%), metanol (100%) e uma mistura água-metanol (1:1 v/v). Após o condicionamento, 6 ciclos de extração com 3 mL de solução de SCP 10  $\text{mg L}^{-1}$  ( $\text{pH}=6$ ) foram realizados e o sobrenadante foi analisado por CE. Um experimento sem a etapa de condicionamento foi realizado para comparação.

### 2.3.11 Otimização das etapas de extração e dessorção na DPX

Para otimização das etapas de adsorção (extração) e dessorção (eluição) da SCP foram utilizados dois planejamentos fatoriais  $2^3$ , avaliando três variáveis em dois níveis. Optou-se por estudar os processos separadamente para que fosse possível entender como cada etapa acontecia no dispositivo. O software livre Octave (versão



4.2.1) foi empregado como ferramenta para cálculos dos efeitos e da porcentagem de importância relativa de cada efeito (Pereira; Pereira-Filho, 2018).

#### 2.3.11.1 *Estudo das condições de adsorção por planejamento fatorial 2<sup>3</sup>*

Para otimização do procedimento de extração da SCP, as variáveis avaliadas foram: tempo de extração, massa de fase sólida e ciclos de extração. Os valores de máximo, mínimo e ponto central dos níveis estudados para cada variável estão apresentados na **Tabela 2.2**. O experimento contou com a realização de uma triplicata do ponto central (p1, p2, p3).

**Tabela 2.2**– Matriz do planejamento fatorial 2<sup>3</sup> para adsorção de SCP.

Experimento	Valores codificados			Valores reais		
	Tempo (s)	Massa (mg)	Ciclos de extração	Tempo (s)	Massa (mg)	Ciclos de extração
1	+	+	+	60	10,0	10
2	-	+	+	20	10,0	10
3	+	-	+	60	5,0	10
4	-	-	+	20	5,0	10
5	+	+	-	60	10,0	2
6	-	+	-	20	10,0	2
7	+	-	-	60	5,0	2
8	-	-	-	20	5,0	2
p1	0	0	0	40	7,5	6
p2	0	0	0	40	7,5	6
p3	0	0	0	40	7,5	6

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

#### 2.3.11.2 *Estudo das condições de dessorção por planejamento fatorial 2<sup>3</sup>*

Para otimização do procedimento de eluição (dessorção), também se realizou uma triplicata do ponto central (p1, p2, p3). Por conta da boa solubilidade da SCP em metanol, este foi o solvente utilizado nesta etapa. Neste caso, as variáveis investigadas foram: volume, concentração do solvente de eluição e ciclos de eluição. Os valores reais e codificados estão apresentados na **Tabela 2.3**.

**Tabela 2.3**– Matriz do planejamento fatorial 2<sup>3</sup> para dessorção de SCP

Experimento	Valores codificados			Valores reais		
	Volume (mL)	[Solvente] %	Ciclos de eluição	Volume (mL)	[Solvente] %	Ciclos de eluição
1	+	+	+	2,00	100	10
2	-	+	+	0,50	100	10
3	+	-	+	2,00	50	10
4	-	-	+	0,50	50	10
5	+	+	-	2,00	100	2
6	-	+	-	0,50	100	2
7	+	-	-	2,00	50	2
8	-	-	-	0,50	50	2
p1	0	0	0	1,25	75	6
p2	0	0	0	1,25	75	6
p3	0	0	0	1,25	75	6

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

### 2.3.12 Parâmetros analíticos

Alguns parâmetros analíticos foram determinados com o intuito de avaliar o desempenho do procedimento proposto, tais como linearidade, sensibilidade do método, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), repetibilidade e recuperação em amostras.

Os limites de detecção e quantificação foram avaliados pelo método da relação sinal – ruído (Schiller; Jena; Curriet, 1998). Os valores foram estimados a partir da comparação do sinal analítico obtido para uma amostra contendo baixas concentrações de escopolamina com o sinal de uma amostra do branco. É considerável a relação sinal / ruído de 3:1 e 10:1, respectivamente para o LOD e LOQ (Morano *et al.*, 2008).

Em seguida baseado em parâmetros da curva analítica, os limites foram expressos (INMETRO, 2010); (Thompson; Ellison; Wood, 2002):

$$\text{LOD} = 3,3 \frac{DP_b}{S} \quad (2.5)$$

$$\text{LOQ} = 10 \frac{DP_b}{S} \quad (2.6)$$

Onde:  $DP_b$  = o desvio padrão das medidas do branco (n=10); S= o coeficiente angular da curva analítica.

A repetibilidade foi expressa como o desvio padrão relativo de uma série de medidas (n=7). O desvio foi calculado de acordo com a Equação 2.7 (Ribeiro *et al.*, 2022):

$$DPR = \frac{DP_x}{\bar{X}} * 100 \quad (2.7)$$

Onde:  $DP_x$  = o desvio padrão da concentração encontrada;  $\bar{X}$  = concentração média encontrada para a série de medidas.

A recuperação foi avaliada adicionando-se quantidades conhecidas de escopolamina a uma amostra de urina sintética. A relação entre a quantidade adicionada e recuperada é o fator de recuperação (R), calculada pela Equação 2.8 (Ribani *et al.*, 2004); (INMETRO, 2010):

$$\% R = \frac{[SCP]_r}{[SCP]_a} * 100 \quad (2.8)$$

Onde:  $[SCP]_r$  é a concentração de escopolamina recuperada ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $[SCP]_a$  é a concentração de escopolamina adicionada ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

Além desses parâmetros mencionados, o fator de pré-concentração foi determinado pela razão dos primeiros pontos da curva analítica com e sem a etapa de pré-concentração (Della *et al.*, 2022). A curva de calibração sem a etapa de pré-concentração consiste na análise direta de soluções de escopolamina (Neri *et al.*, 2019); (Tomasin *et al.*, 2021).

### 2.3.13 Aplicação em amostras de urina sintética

As amostras de urina sintética utilizadas foram preparadas baseada no trabalho de Brooks *et al.* (1997). Para isso, foram adicionados em 250 mL de água deionizada: 0,1 g de ácido cítrico, 0,093 g de ácido ascórbico, 0,525 g de bicarbonato de sódio, 2,5 g de ureia, 0,0175 g de ácido úrico, 0,01 g de cloreto de cálcio di-hidratado, 1,3 g de cloreto de sódio, 0,353 g de sulfato de sódio, 0,123 g de sulfato de magnésio heptahidratado, 0,325 g de cloreto de amônio, 0,238 g de hidrogenofosfato de potássio e 0,305 g de di-hidrogenofosfato de potássio. Em seguida, a amostra foi transferida para um frasco âmbar e armazenada na geladeira (Brooks; Keevil, 1997).

As amostras de urina sintética foram fortificadas com solução de SCP, o pH foi ajustado para 6, em seguida submetidas as condições otimizadas do método proposto: 1 ciclo de condicionamento com água destilada, 10 ciclos de extração, 2 ciclos de eluição com 500  $\mu\text{L}$  de metanol.

## 2.4 Resultados e discussões

### 2.4.1 Estudo teórico: Dinâmica Molecular

O mecanismo de impressão molecular é baseado na formação de cavidades de ligação específicas na estrutura de um material polimérico, que depende fortemente do tipo de interações químicas que ocorrem entre a molécula modelo e o monômero funcional (Mayor *et al.*, 2017). A impressão molecular do tipo não covalente ocorre devido à formação de interações (ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, etc.) entre uma MM e o MF (Hu, Chih-Hsien; Chou, 2009); (Santos *et al.*, 2012). A avaliação dessas interações *via* dinâmica molecular pode contribuir com a preparação de MIP na escolha do melhor MF, ou seja, fornece uma triagem rápida dos reagentes, otimizando o tempo e eficiência da síntese. Neste trabalho, além da avaliação das interações MM e MF, consideramos também o agente ligação cruzada (EGDMA), conforme trabalho realizado por Shoravi *et al.*(2014).

As simulações foram realizadas considerando a presença e ausência de EGDMA na mistura, a fim de observar o impacto desta molécula na posterior interação entre o polímero e a MM. Após avaliação preliminar, foi verificado que a presença do EGDMA diminui o número de ligações máximas de hidrogênio para todos os ligantes, uma para cada, como apresentado na **Tabela 2.4**. Ou seja, é importante considerar a presença desse reagente na simulação pois influencia na interação SCP-MF. Além disso, destaca-se que o número de ligações de hidrogênio entre EGDMA e a SCP é o mesmo que o dos ligantes AAC e MAA. Porém, para a ACR, a interação EGDMA-SCP é menor. Este resultado sugere que a EGDMA pode competir tanto com a AAC quanto com a MAA pela interação com a MM (Silva *et al.*, 2022b).

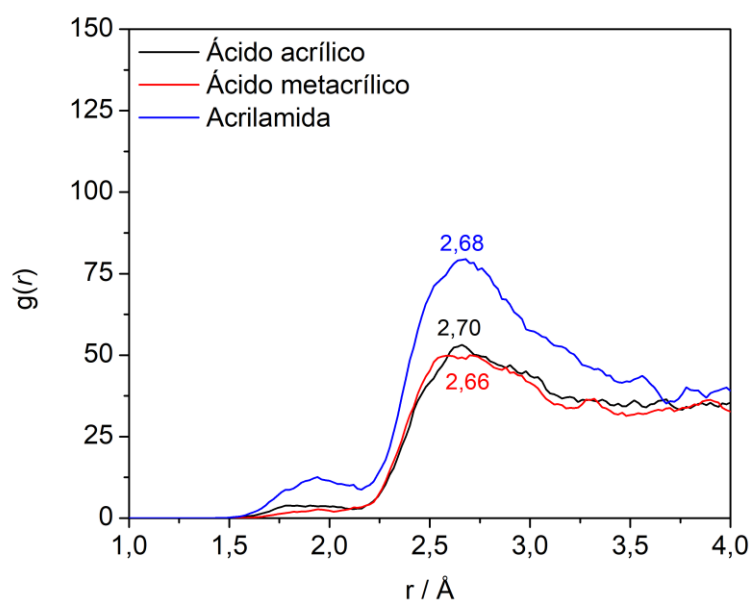
**Tabela 2.4**– Número máximo de ligações de hidrogênio entre a SCP os monômeros e o EGDMA

Monômero	Ligações de hidrogênio		
	EGDMA (ausente)	EGDMA (presente)	EGDMA + MF
<b>AAC</b>	4	3	3
<b>MAA</b>	3	2	2
<b>ACR</b>	5	4	2

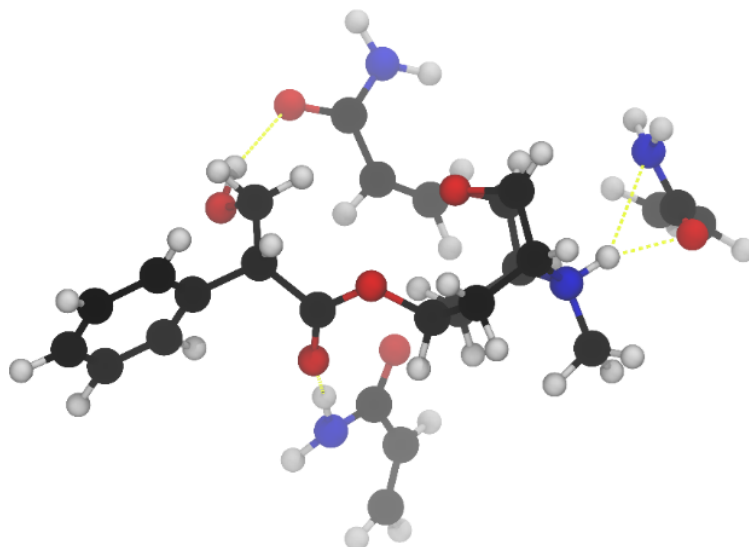
Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

Outra análise realizada foi a interação da SCP com os monômeros por meio da função de distribuição radial (do inglês *Radial Distribution Function* - RDF) em termos de função de correlação de par,  $g(r)$ , que mostra a densidade de átomos dos ligantes distribuídos ao redor do modelo. Para esta análise, a molécula de SCP foi selecionada como referência, enquanto apenas os átomos doadores e aceptores de hidrogênio dos MF e do EGDMA foram escolhidos para o cálculo. Os resultados obtidos para AAC, MAA, ACR na presença de EGDMA são exibidos na **Figura 2.4**.

No decorrer da simulação, a ACR permaneceu o ligante mais próximo da SCP. Os valores de distância dos picos máximos de distribuição radial até 4,00 Å são praticamente os mesmos para todos os ligantes. Esses valores estão dentro do limiar de distância característico (2,00 a 3,50 Å) para interações do tipo de ligação de hidrogênio. No entanto, a intensidade dos picos é diferente, com a ACR sendo o ligante com o pico de distribuição radial mais intenso devido às interações mais fortes entre eles e a SCP. O número máximo de ligações de hidrogênio entre ACR e SCP é ilustrado na **Figura 2.5**, que exibe um intervalo de tempo registrado durante a simulação. Portanto, os resultados da função de distribuição radial, maior ocupação de ligação de hidrogênio e o número máximo de ligações de hidrogênio mostraram boa correlação, indicando que ACR é um ligante mais adequado para escopolamina quando comparado com AAC e MAA sob as condições simuladas (Silva *et al.*, 2022b).



**Figura 2.4**– Função de distribuição radial  $g(r)$ , dos ligantes investigados em torno de escopolamina com o EGDMA. **Fonte:** (Silva *et al.*, 2022b).



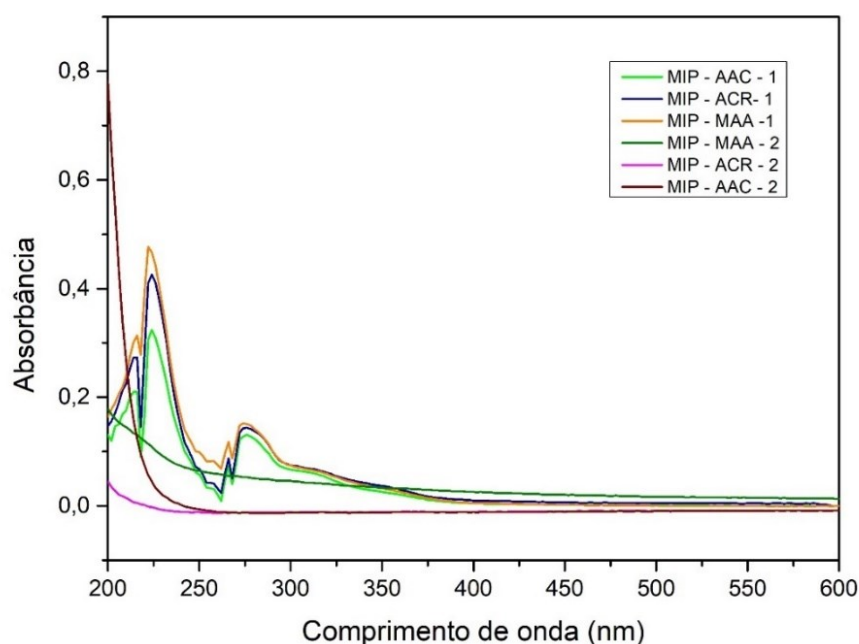
**Figura 2.5**– Representação das 3 ligações de hidrogênio (representado pela linha tracejada em amarelo) formadas entre ACR e escopolamina durante a simulação. **Fonte:** (SILVA *et al.*, 2022b).

#### 2.4.2 Síntese e preparação dos polímeros (MIP/NIP)

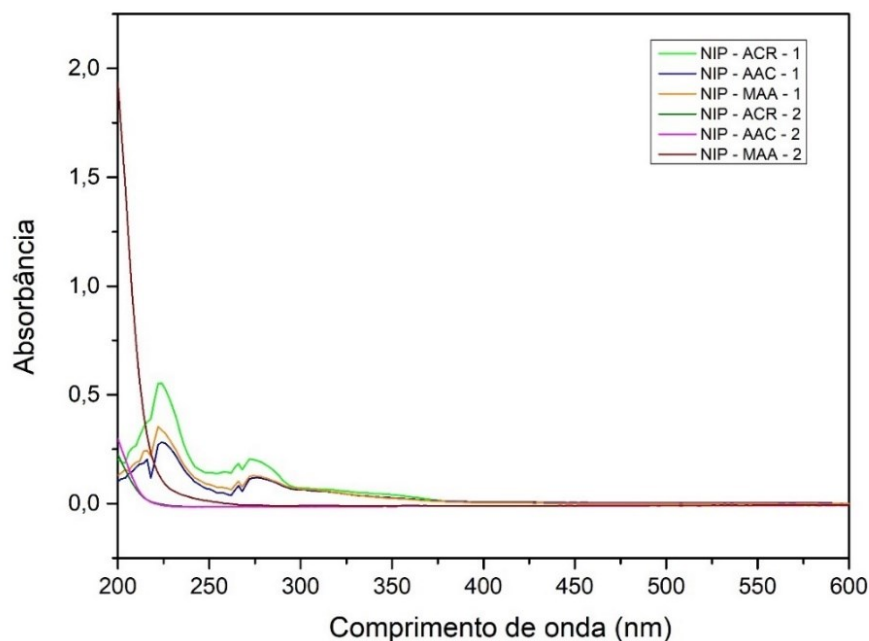
Para comparar e validar os resultados previstos pelo estudo teórico, os MIPs e NIPs foram sintetizados via método de polimerização em *bulk*. Foram utilizados os três MF previamente selecionados: ácido acrílico (MIP/NIP-AAC), ácido metacrílico (MIP/NIP-MAA) e acrilamida (MIP/NIP-ACR) com uma razão de 1:5 (MM:MF) (O'Mahony *et al.*, 2013). O MF é responsável por determinar o tipo de interação/ligação nos sítios impressos do polímero. No caso do AAC e MAA, o tipo de interação estabelecida pode ser interações iônicas e ligação de hidrogênio. Já para a ACR, a interação que prevalece é do tipo ligação de hidrogênio (Figueiredo, E. C.; Dias, A. C. B.; Arruda, M. A. Z., 2008); (Nishchaya; Rai; Bansode, 2023). A escolha do MF depende da natureza do analito, ou seja, o monômero deve corresponder à funcionalidade da MM. As interações devem ser fortes o suficiente para promover a formação de sítios de ligação, mas também fracas o suficiente para permitir a remoção da MM de modo a não destruir as cavidades de reconhecimento formadas (Cormack, P. A. G.; Elorza, A. Z., 2004).

Após as sínteses, os polímeros MIP/NIP obtidos foram lavados sucessivamente com metanol, para remover quaisquer resíduos de reagentes. Em seguida, para retirar a MM das cavidades internas dos MIPs, foi realizada uma extração vigorosa durante 24h em um sistema Soxhlet. Esta etapa foi dividida em duas partes: a primeira com

18h de extração utilizando uma mistura metanol e ácido acético na proporção 9:1 (v/v) e a segunda com 6h de extração apenas com metanol. Após a lavagem, os solventes utilizados foram monitorados por meio da avaliação de espectros de absorção na região do ultravioleta (200-400 nm) para verificar se, ainda havia a presença da MM nos resíduos das lavagens. As últimas varreduras realizadas de cada uma das etapas (1 e 2) estão apresentadas nas **Figuras 2.6 e 2.7**, respectivamente MIPs e NIPs. O término da lavagem ocorreu quando não apresentou mais detecção espectrofotométrica de SCP (Erk; Onur, 1996). Como observado na **Figura 2.7**, a segunda etapa de lavagem já não apresenta nenhum sinal, indicando que qualquer excesso de reagente e a SCP foram removidos dos MIPs. As varreduras dos solventes utilizados na lavagem dos NIPs também foram realizadas como um controle de comparação com as varreduras do MIPs.



**Figura 2.6**– Espectros de absorção UV-Vis dos solventes utilizados na remoção da MM dos MIPs: 1- indica mistura ácido acético – metanol (1:9); 2- indica apenas metanol. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).



**Figura 2.7**– Espectros de absorção UV-Vis dos solventes utilizados na remoção da MM dos NIPs: 1- indica mistura ácido acético – metanol (1:9); 2- indica apenas metanol. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

### 2.4.3 Obtenção dos fatores de impressão molecular (FI)

Finalizada a etapa de remoção da SCP, os polímeros foram secos em estufa, macerados e armazenados em frascos vedados. Em seguida as ponteiros contendo os polímeros para DPX foram preparadas e os estudos de religação realizados. O procedimento contou com 1 ciclo de condicionamento com 3 mL de metanol, 2 ciclos de condicionamento com 3 mL água destilada e 6 ciclos de extração com 3 mL de soluções de SCP em diferentes concentrações. Para cada concentração de SCP, uma nova ponteira foi utilizada. Em seguida, os valores de Q e FI foram calculados de acordo com a Equação 2.1 e 2.2, respectivamente. Estes parâmetros são os principais fatores para se avaliar o desempenho analítico de um MIP, quanto maior os valores de FI e Q mais eficiente será o polímero obtido. Os resultados encontrados estão apresentados na **Tabela 2.5**.



**Tabela 2.5**– Fatores de impressão e capacidade adsorptivas para as formulações de MIP preparadas com diferentes monômeros

SCP (mg L <sup>-1</sup> )	AAC			MAA			ACR		
	Q <sub>MIP</sub>	Q <sub>NIP</sub>	FI	Q <sub>MIP</sub>	Q <sub>NIP</sub>	FI	Q <sub>MIP</sub>	Q <sub>NIP</sub>	FI
5	0,60	0,55	1,09	0,58	0,80	0,73	0,77	0,54	1,43
10	0,90	0,87	1,03	0,95	1,00	0,95	1,30	0,91	1,44
25	1,10	1,00	1,10	1,10	1,20	0,92	1,80	0,95	1,89
50	1,00	1,20	0,83	1,20	1,20	1,00	4,05	1,25	3,24

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

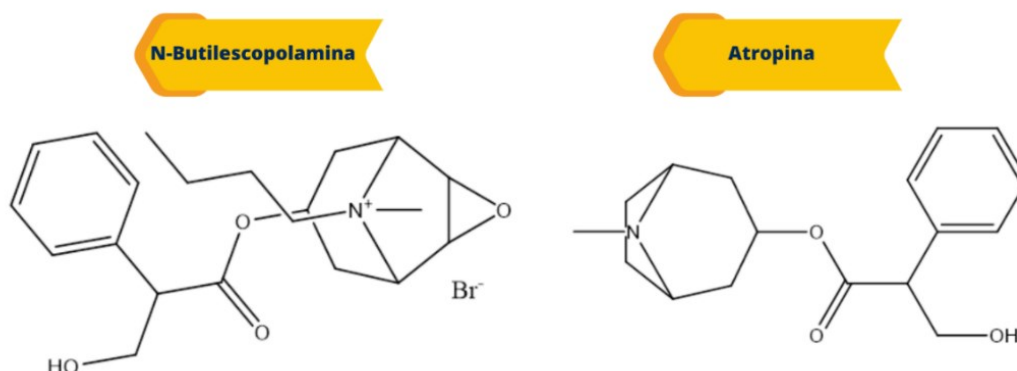
Pode-se observar que o MIP sintetizado utilizando a ACR como MF (MIP-ACR), apresentou os maiores valores de Q e os melhores valores de FI. Os valores de FI encontrados para este polímero foram maiores que 1, o que indica que a capacidade de adsorção do MIP foi superior ao valor encontrado para o NIP. Isso acontece por conta das cavidades seletivas formadas no MIP, favorecendo assim a religação da SCP e consequentemente aumentando o valor de Q. Para o MIP sintetizado utilizando o AAC como MF (MIP-AAC), os valores de FI foram majoritariamente próximos a 1. Isto significa que os valores de Q obtidos tanto para MIP, quanto para o NIP, foram parecidos, apontando que não houve uma adsorção seletiva. Já no caso do MIP sintetizado utilizando o MAA como MF (MIP-MAA), alguns valores de FI foram menores que 1, o que indica que o Q<sub>NIP</sub> foi maior, ou seja, para este polímero prevaleceu adsorção não seletiva.

Após a avaliação destes parâmetros com diferentes concentrações de SCP, é possível concluir que a interação MIP-ACR e a SCP foi a mais eficiente. Vale destacar que a ligação de hidrogênio é o principal tipo de interação associada às cavidades impressas neste polímero, e que prevaleceu em relação às demais interações no meio. Portanto, os resultados experimentais obtidos corroboram os estudos teóricos previamente desenvolvidos, onde o uso da ACR como MF obteve maior interação entre a molécula alvo (SCP) e o polímero molecularmente impresso.

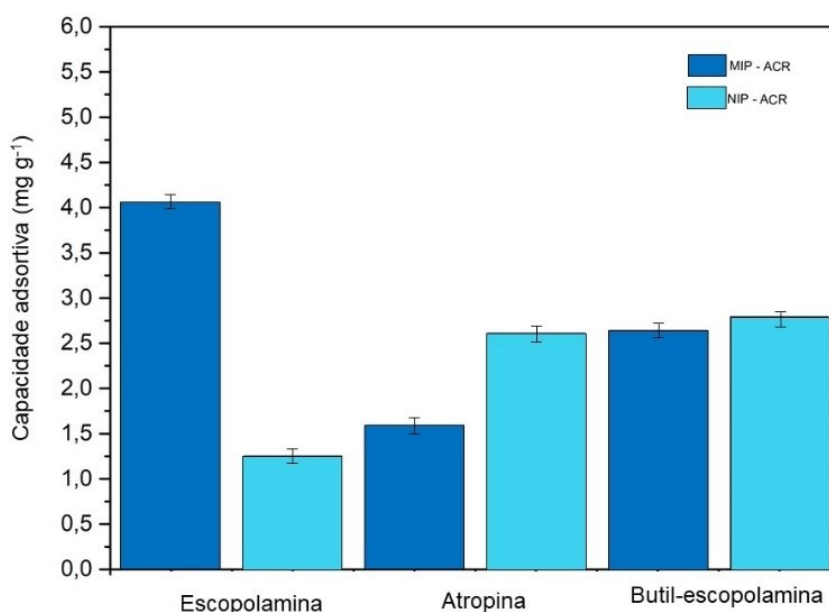
#### 2.4.4 Seletividade dos polímeros sintetizados

A seletividade do MIP-ACR para SCP foi avaliada por meio da comparação da religação dos polímeros com moléculas semelhantes. Para este estudo, foi utilizado a atropina (ATR) e a butil-escopolamina (BSCP) por possuírem estruturas similares, como apresentado na **Figura 2.8**. Os parâmetros norteadores da seletividade foram:

$Fl_{SCP}$ ,  $Fl_{\alpha}$  (Equação 2.2), o coeficiente de seletividade relativa,  $\beta$  (Equação 2.3) e  $Q$ . Os resultados estão apresentados na **Figura 2.9**.



**Figura 2.8**– Estruturas das moléculas utilizadas para o teste de seletividade. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).



**Figura 2.9**– Capacidade de adsorção de MIP-ACR e NIP-ACR para escopolamina e moléculas análogas. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Como observado na **Figura 2.9**, o  $Q$  obtido para a interação do MIP-ACR com SCP é maior do que para ATR (aproximadamente 2,6 vezes) e BSCP (aproximadamente 1,6 vezes). Além disso, o  $Q$  calculado para o NIP-ACR para SCP é menor do que para ATR e BSCP. Este fato originou em um  $Fl_{SCP}$  ( $=Fl_{\alpha}$ ) superior para SCP, os resultados obtidos foram apresentados na **Tabela 2.6**. Com o  $Fl_{SCP}$  igual

a 3,2 demonstra que a interação promovida pelas cavidades internas do MIP-ACR é mais seletiva para SCP mesmo em comparação com moléculas semelhantes. Por fim, obteve-se o fator de seletividade relativa correspondente à razão entre o  $FI_{SCP}$  e o  $FI_{\alpha}$  das moléculas análogas. Em ambos os casos, com os valores de  $\beta$  maiores a 1, indicam o desempenho superior do MIP-ACR proposto em relação à SCP.

**Tabela 2.6**– Parâmetros  $FI_{\alpha}$  e  $\beta$  para avaliação da seletividade de moléculas análogas em relação aos polímeros impressos (MIP-ACR e NIP-ACR).

Molécula	$FI_{\alpha}$	$\beta$
SCP	3,20	1,00
BSCP	0,61	3,40
ATR	0,94	5,25

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

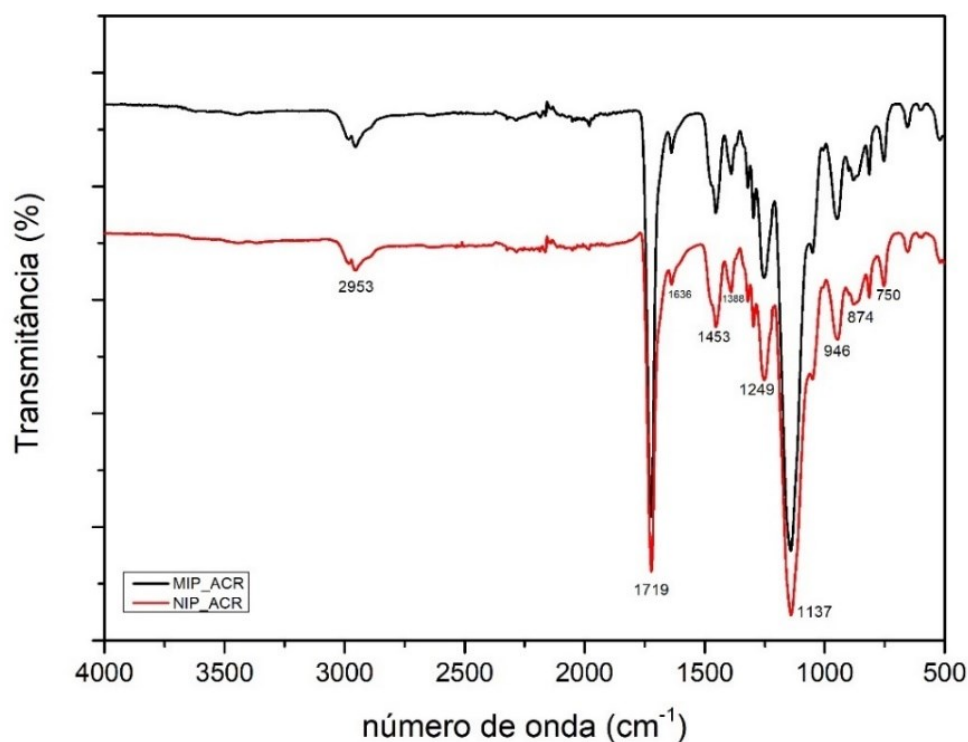
#### 2.4.5 Caracterização morfológica e estrutural do MIP-ACR e NIP-ACR

Após a análise dos resultados de seletividade, o MIP sintetizado utilizando ACR foi o que mais se destacou no reconhecimento da SCP. Por isso, foi selecionado para a caracterização morfológica, identificação de grupos funcionais (FTIR), determinação da morfologia (MEV), área superficial específica (BET) e distribuição dos tamanhos das partículas (BJH).

##### 2.4.5.1 Espectroscopia da região do infravermelho (FTIR)

No espectro de infravermelho do MIP-ACR e NIP-ACR, apresentado na **Figura 2.10**, as principais bandas analisadas foram assinaladas, apontando os principais grupos funcionais presentes na superfície dos polímeros. A composição química da superfície do adsorvente influencia na capacidade de religação, e auxilia a compreensão das possíveis interações entre o adsorvente e o analito. A banda centrada em  $2953\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento assimétrico C-H. As bandas centradas em  $1719\text{ cm}^{-1}$  e  $1636\text{ cm}^{-1}$  são provavelmente atribuídas ao alongamento de C=O de anidridos e amidas terciárias, respectivamente. Os picos localizados em  $1453\text{ cm}^{-1}$  e  $1388\text{ cm}^{-1}$  correspondem, respectivamente, ao alongamento assimétrico e simétrico da conexão de C-H no grupo  $\text{CH}_2$ , indicando também longas cadeias carbônicas. As bandas em  $1249\text{ cm}^{-1}$  e  $1137\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas ao alongamento da ligação C-N das alquil-aminas. A banda em  $946\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao C=C.

Finalmente, as bandas observadas em  $874\text{ cm}^{-1}$  e  $750\text{ cm}^{-1}$  correspondem a ligações C=C comuns em cadeias aromáticas.



**Figura 2.10**– Espectros FTIR de polímero impresso (MIP-ACR) e não impresso polímero (NIP-ACR).  
**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

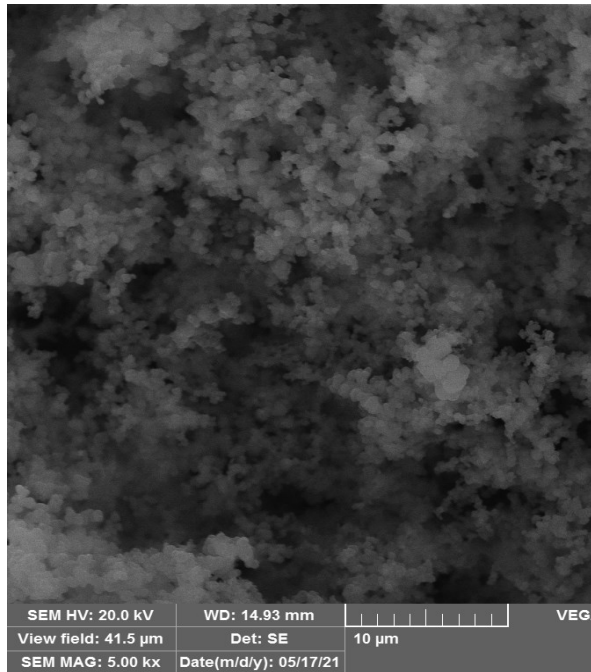
Como observado, não há diferenças significativas entre os espectros de infravermelho do MIP-ACR e NIP-ACR. Este resultado já era esperado, pois a diferença entre os dois polímeros é basicamente morfológica e não por composição química, uma vez que a estrutura polimérica é a mesma. O que vale ressaltar é que os grupos mencionados, amidas, anidridos sugerem que interações eletrostáticas ocorram entre a SCP e a superfície dos polímeros.

#### 2.4.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

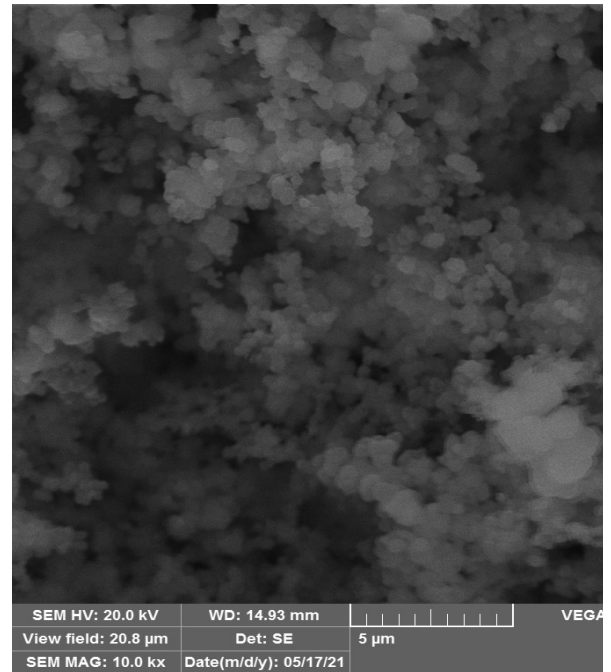
Além da investigação dos grupos funcionais da superfície dos polímeros (MIP-ACR/NIP-ACR), as micrografias eletrônicas de varredura foram registradas em duas ampliações para avaliação da sua morfologia. Conforme mostrado na **Figura 2.11**, há uma diferença considerável nos núcleos sólidos formados. A caracterização por microscopia eletrônica de varredura confirmou que os materiais possuem estruturas irregulares e cavidades intrapartículas. Adicionalmente, parece não haver

homogeneidade na formação das partículas e distribuição de tamanhos em configurações irregulares. Nas micrografias é possível notar uma agregação de microesferas tanto no MIP quanto no NIP, conseqüentemente formando grânulos poliméricos.

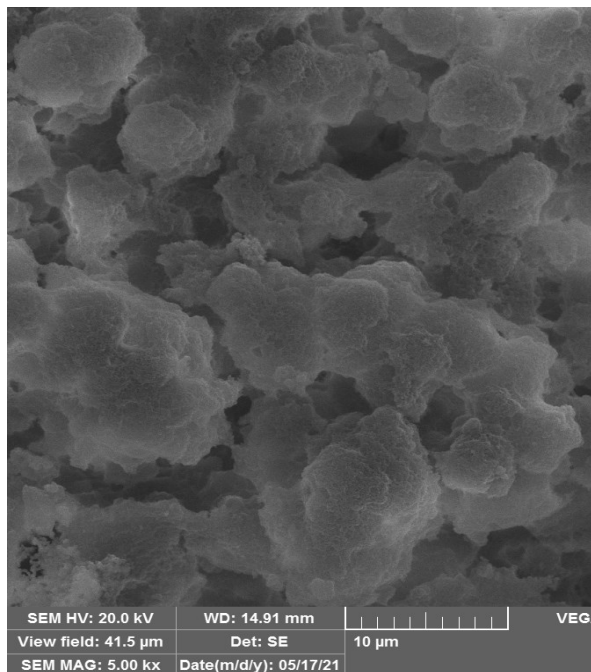
(A)



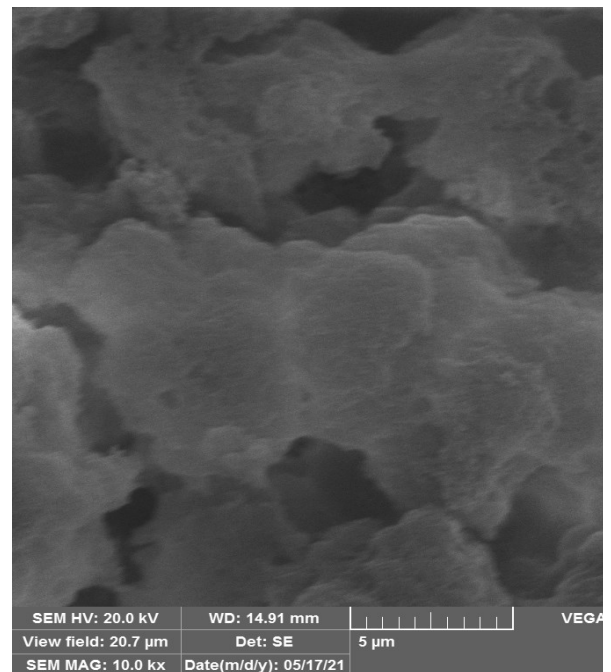
(B)



(C)



(D)



**Figura 2.11**– Imagens obtidas no MEV: (A) MIP-ACR 5000x, (B) MIP-ACR 10000x, (C) NIP-ACR 5000x, (D) NIP-ACR 10000x. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

### 2.4.5.3 Área Superficial, tamanho e volume de poros

A principal diferença entre MIP e NIP está na cavidade seletiva formada no MIP, que é responsável pelo reconhecimento molecular e religação com o analito. As estruturas de poros também foram caracterizadas por medidas isotermas de nitrogênio. A área superficial foi determinada pelo método BET, enquanto o método BJH foi utilizado para calcular o volume total dos poros formados (**Tabela 2.7**).

**Tabela 2.7**– Resultados BET e BJH obtidos para MIP-ACR e NIP-ACR

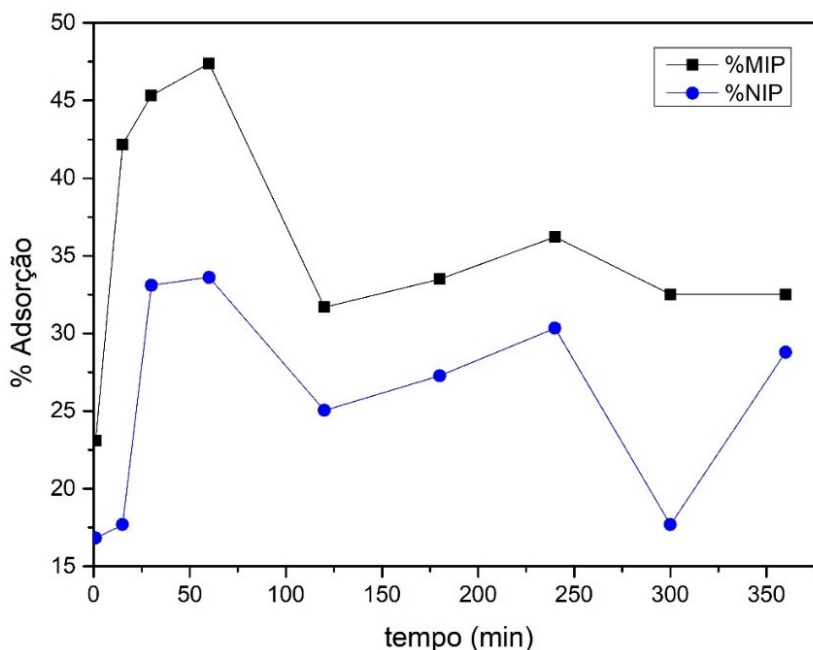
Polímero	Área superficial (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Volume total (cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup> )	Diâmetro médio (nm)
MIP	212,77	0,1864	1,7528
NIP	234,58	0,1798	1,5334

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

Embora MIP e NIP tenham valores de área de superfície próximos, o NIP ainda possui a maior área de superfície. Além disso, deve-se considerar que no MIP há interações entre o MF e o analito e que durante a síntese este complexo MF-MM interage menos com o solvente porogênico, o que por sua vez leva a uma interação mais fraca com a rede polimérica. Conseqüentemente, o solvente evapora mais facilmente da rede, reduzindo assim a área de superfície MIP. Em contraste, o volume e o tamanho dos poros tornam-se maiores porque a rede polimérica é desenvolvida em torno da MM.

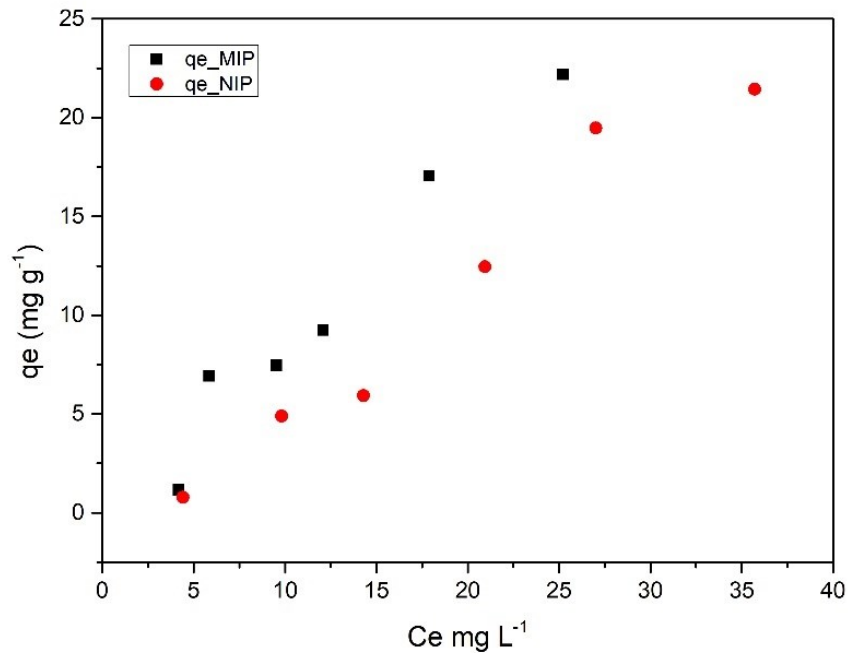
### 2.4.6 Estudos de adsorção em batelada

A investigação do processo de adsorção entre MIP e molécula alvo foi realizada em batelada. Para isso, MIP-ACR e NIP-ACR foram agitados por um determinado intervalo de tempo com 15 mL de uma solução de escopolamina de concentração 50 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados foram expressos em porcentagem de adsorção em função do tempo de contato, conforme apresentados na **Figura 2.12**. O objetivo desse experimento foi a obtenção do tempo para que a máxima adsorção de escopolamina ocorresse. Também, foi possível observar que a adsorção de MIP, foi maior que a do NIP neste período.



**Figura 2.12**– Avaliação da porcentagem de adsorção dos polímeros: MIP-ACR e NIP-ACR. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Em 60 minutos de agitação, o sistema MIP-ACR apresentou aproximadamente 47% de adsorção, enquanto o NIP-ACR resultou em 33%. Como neste tempo apresentou a maior porcentagem de adsorção, ele foi escolhido para o ensaio para obtenção da isoterma de adsorção. Para a obtenção de uma isoterma, a massa de adsorvente, o volume de solução e o tempo de contato são fixados, variando apenas a concentração inicial ( $C_0$ ) do analito. A partir da razão da quantidade SCP adsorvida pelo polímero adsorvente  $q_e$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) e da concentração de SCP no meio aquoso após o equilíbrio,  $C_e$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ), foram construídas as isotermas de equilíbrio ou gráficos de  $q_e$  versus  $C_e$ , apresentado na **Figura 2.13**. Os resultados obtidos indicam uma tendência para isoterma linear na região de concentrações maiores  $10,0 \text{ mg L}^{-1}$  para o MIP. Isso significa que a massa de SCP retida por unidade de massa de adsorvente é proporcional a concentração de equilíbrio na fase líquida. Para o NIP, isso acontece em um intervalo menor de concentração  $15 - 30 \text{ mg L}^{-1}$ , mostrando também diferentes comportamentos para cada concentração estudada.



**Figura 2.13**– Isoterma de adsorção experimental do MIP-ACR e NIP-ACR. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Existem diferentes modelos teóricos de adsorção para ajuste não-linear dos valores experimentais, como por exemplo as isotermas de Langmuir (**Figura 2.14**) e isotermas de Freundlich (**Figura 2.15**). As isotermas permitem a determinação de parâmetros relacionados ao equilíbrio de adsorção e a quantidade máxima de escopolamina adsorvida na superfície, além da identificação de processos físico-químicos envolvidos na adsorção. Os resultados foram apresentados na **Tabela 2.8**.

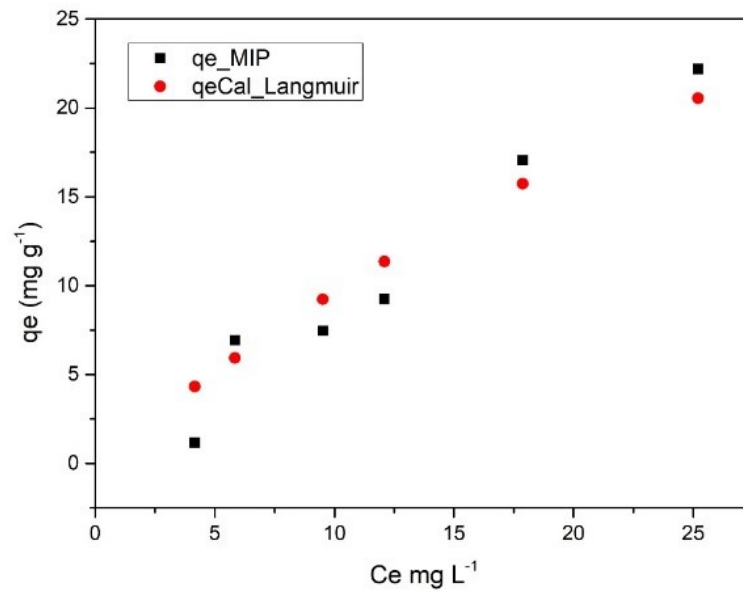
A isoterma de Langmuir é bastante utilizada, devido ao fato de prever a capacidade máxima de adsorção e a relação pode ser calculada segundo a Equação 2.9 (Zhang et al., 2019):

$$q = \frac{q_{m\acute{a}x} \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (2.9)$$

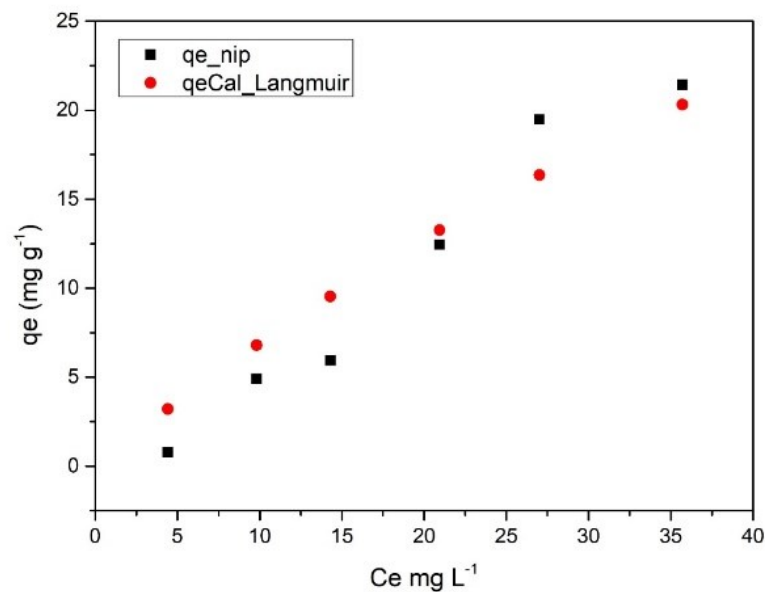
Onde:  $q$  = quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no estado de equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $q_{m\acute{a}x}$  = capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $K_L$  = constante de interação, corresponde à afinidade entre a superfície do adsorvente e o adsorvato ( $\text{L mg}^{-1}$ );  $C_e$  = concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ ).



(A)



(B)



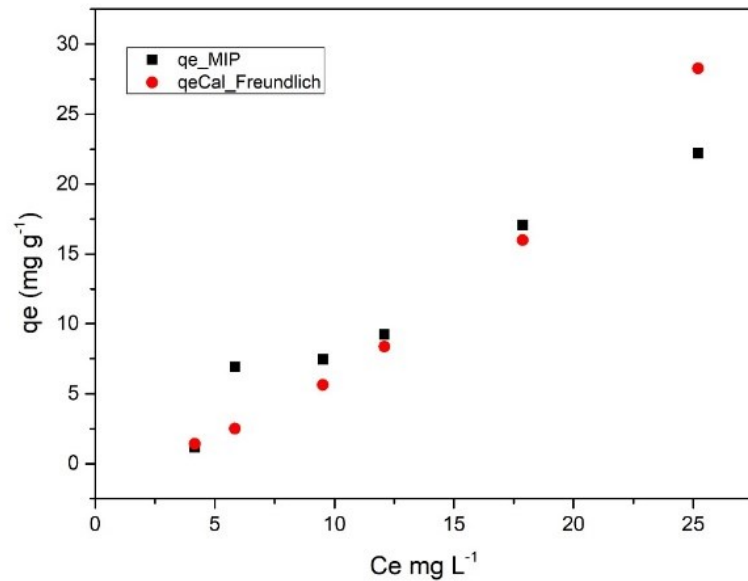
**Figura 2.14**– Ajustes dos dados experimentais isoterma de Langmuir (A) MIP-ACR e (B) NIP-ACR. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

O modelo de isoterma de Freundlich considera o sólido heterogêneo, assume a existência de uma estrutura de adsorção em multicamadas e prevê uma distribuição exponencial de vários sítios de adsorção com energias adsortivas diferentes (Shinzato et al., 2009; Zhang et al., 2019). É representada pela Equação 2.10:

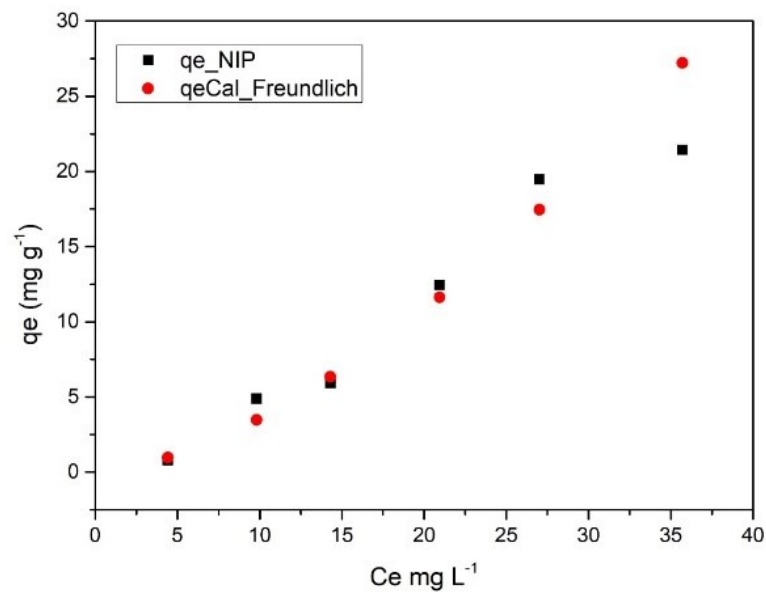
$$q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (2.10)$$

Onde:  $q_e$  = quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no estado de equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $1/n$ : constante relacionada à heterogeneidade da superfície;  $K_f$ : constante de capacidade de adsorção de Freundlich ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

(A)



(B)



**Figura 2.15**– Ajustes de dados experimentais isoterma de Freundlich (A) MIP-ACR e (B) NIP-ACR. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

**Tabela 2.8**– Parâmetros obtidos nos ajustes aos modelos de isotermas

Polímero	Isoterma de Langmuir			Isoterma de Freundlich		
	R <sup>2</sup>	Q <sub>máx</sub> (mg g <sup>-1</sup> )	K <sub>L</sub>	R <sup>2</sup>	K <sub>F</sub> (µg g <sup>-1</sup> )	1/n
<b>MIP</b>	0,9006	0,0137	79,9825	0,9515	134,2	1,6577
<b>NIP</b>	0,8780	0,0091	82,5527	0,9602	91,8	1,5920

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

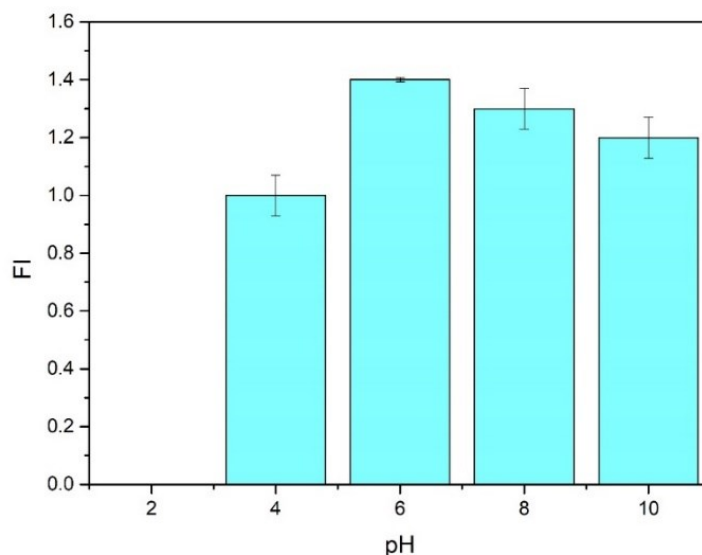
O modelo de Freundlich apresentou o melhor ajuste para os dados experimentais obtidos baseado no valor de R<sup>2</sup>. Segundo Cooney (1999), esse modelo não impõe qualquer exigência de que a cobertura do adsorvato se aproximará de um valor constante. O parâmetro 1/n prevê a interação entre a SCP e os polímeros, quanto menor esse valor mais forte é a interação. Porém, os valores encontrados estão próximos tanto para o MIP, quanto para o NIP o que sugere interações parecidas com ambos. Já a constante de capacidade de adsorção K<sub>F</sub> é maior para o MIP, isso indica que a SCP interagiu melhor com a superfície do polímero, o que já era esperado em virtude das cavidades seletivas presentes. Os valores de K<sub>F</sub> indicam a capacidade de adsorção do adsorvente, sendo diretamente proporcionais, ou seja, quanto maior o valor da constante maior será a capacidade de adsorção.

#### 2.4.7 Estudos de otimização das condições de extração e dessorção da SCP no dispositivo DPX

Para a aplicação do MIP-ACR como FE utilizando a técnica de DPX, foi necessário otimizar algumas condições operacionais do dispositivo confeccionado, dentre eles: pH do meio, condicionamento da FE, condições de extração e eluição.

O pH do meio influencia no processo de adsorção da SCP, por isso foi o primeiro ensaio executado. Este experimento foi realizado na DPX, nas mesmas condições que o ensaio de religação: 20 mg de fase sólida, 1 ciclo de condicionamento com metanol (3 mL), 2 ciclos de condicionamento com água destilada (3 mL), 6 ciclos de extração com 3 mL de soluções de SCP 25,0 mg L<sup>-1</sup>. Em seguida, o sobrenadante foi injetado no equipamento de CE para quantificação da SCP e o valores de FI determinados. Os resultados obtidos estão apresentados na **Figura 2.16**. Não foi possível detectar SCP em pH 2 e uma possibilidade para este resultado é a influência do pH na separação eletroforética, que ocorre com eletrólito tamponado em pH 4,5. Em pH igual ou menor que 2, o fluxo eletroforético é nulo ou muito baixo, portanto,

essa solução pode ter influenciado diretamente nas condições da separação da SCP. Dentre os demais pHs avaliados, o valor de pH 6 se destacou com maior FI, ou seja, as diferenças entre a adsorção do MIP-ACR e NIP-ACR foram significativas. Com isso, esse foi o pH escolhido para os próximos experimentos.



**Figura 2.16**– Avaliação da influência do pH meio no FI. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

A partir da escolha do pH adequado para interação da SCP com o MIP-ACR, foi feita a avaliação da etapa de condicionamento. O condicionamento é uma etapa importante da DPX, sendo realizada antes da etapa de extração e pode contribuir para a adsorção do analito pela FE. Para esta avaliação, um estudo univariado foi realizado com 1 ciclo de condicionamento com volume de 3 mL para cada solvente avaliado. As condições de extração foram as mesmas de experimentos anteriores (6 ciclos empregando a mesma solução, com concentração  $25 \text{ mg L}^{-1}$  de SCP, em pH 6). Os resultados obtidos de Q e FI para cada condição estudada estão apresentados na **Tabela 2.9**. Como observado na tabela, o condicionamento com água apresentou o melhor valor de Q para o MIP-ACR. Quando este valor é comparado a adsorção do NIP o valor de FI se mantém em destaque. Os testes ocorreram com solução aquosa de SCP, portanto, é comum que o condicionamento seja mais eficiente com o solvente da solução a ser analisada. Um ponto interessante a ser observado é que mesmo variando o solvente de condicionamento, o MIP apresentou valores parecido de Q em todos os casos, indicando que a afinidade da SCP pelo MIP é maior que no NIP.

**Tabela 2.9**– Avaliação univariado da etapa de condicionamento do processo de extração em ponteiros contendo o adsorvente

Condicionamento	Polímero	Q (mg/g)	FI
Água	MIP	1,60±0,12	1,42
	NIP	1,13±0,25	
Metanol	MIP	1,33±0,20	1,17
	NIP	1,14±0,32	
Água - metanol	MIP	1,50±0,16	1,25
	NIP	1,20±0,10	
Sem condicionamento	MIP	1,42±0,15	1,27
	NIP	1,12±0,31	

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

Escolhido o solvente adequado para condicionamento, um planejamento fatorial foi realizado para que as melhores condições de extração da SCP pudessem ser atingidas. Os resultados de porcentagem de adsorção, Q e FI foram escolhidos como parâmetro de avaliação (i.e. resposta analítica) da eficiência de extração e estão apresentados na **Tabela 2.10**. A estratégia de planejamento fatorial foi útil na triagem das variáveis mais relevantes no processo de adsorção, onde vários parâmetros podem causar influência no resultado. A combinação entre as variáveis tempo, massa de fase extratora e ciclos de extração gerou um número 11 experimentos no total, e possibilitou que diferentes situações pudessem ser avaliadas por meio da resposta obtida em cada experimento realizado.

**Tabela 2.10**- Resposta do planejamento fatorial  $2^3$  para adsorção de SCP.

Experimento	% Adsorção		Q (mg/g)		FI
	MIP	NIP	MIP	NIP	
1	59,29	45,60	2,24	1,72	1,30
2	40,02	26,67	1,51	1,01	1,50
3	24,38	23,85	1,84	1,80	1,02
4	31,64	31,01	2,39	2,34	1,02
5	44,83	44,28	1,69	1,67	1,01
6	35,81	32,05	1,35	1,21	1,12
7	6,10	22,41	0,46	1,69	0,27
8	2,51	16,34	0,19	1,23	0,15
p1	39,25	19,71	1,97	0,99	1,99
p2	40,88	39,49	2,06	1,99	1,04
p3	39,75	57,58	2,00	2,89	0,69

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

Após a avaliação de todas as respostas encontradas (% de adsorção, Q, FI), a variável escolhida como resposta analítica para interpretação do melhor experimento foi o FI. Visto que o FI relaciona o QMIP e QNIP, o experimento 2 indicou a combinação ideal de variáveis. A partir desses experimentos, as condições otimizadas foram: 20 s, 10 mg e 10 ciclos de extração. Nessas condições, foi possível obter o valor de FI de 1,5, indicando a diferença entre o MIP e o NIP. Quanto aos resultados do ponto central, o MIP mostrou-se consistente nos três experimentos, ao contrário do NIP, que apresentou resultados diferentes entre si. Essa variação elevada nos resultados do NIP já foi observada em estudos anteriores. O planejamento fatorial contemplou um ponto central (n=3), e a partir desses valores, a variância e o erro experimental foram calculados, bem como os efeitos resultantes relacionados às variáveis investigadas (**Tabela 2.11**).

**Tabela 2.11**– Avaliação das relações entre as variáveis propostas: 1 – tempo, 2 – massa, 3 – ciclos de extração

	<b>Efeito</b>	<b>%</b>
<b>1</b>	-0,0475	0,29
<b>2</b>	0,6175	48,76
<b>3</b>	0,5725	41,91
<b>12</b>	-0,1075	1,48
<b>13</b>	-0,0525	0,35
<b>23</b>	-0,2375	7,21
<b>123</b>	0,0075	0,01

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Além das respostas experimentais, é possível avaliar o efeito de cada variável e o efeito relacionado na combinação delas, os efeitos secundários representam a interação entre duas variáveis principais (12, 13 e 23) e o efeito terciário indica a interação entre as três variáveis principais (123). Neste caso, as variáveis que exercem os maiores efeitos são a massa de adsorvente (2) e o número de ciclos (3). Esses resultados já eram esperados, pois quanto maior a massa de polímero espera-se que a adsorção seja maior (+). O mesmo ocorre para os ciclos de extração, quanto maior o número e ciclos (+) feitos aumenta a chance de adsorver mais SCP. Como a DPX implica em um contato rápido entre a FE e a solução, seguido de mistura de ar, a variação do tempo não se mostrou um efeito considerável. Mesmo assim, o efeito baixo e negativo, significa que a melhor opção seria os 20 s (-).

Definidas quais as condições otimizadas de extração (adsorção), um novo

planejamento fatorial foi elaborado, porém neste caso a triagem foi para se obter as melhores condições de eluição da SCP após o procedimento de extração com metanol como solvente. As variáveis escolhidas foram: volume de solvente, concentração e o número de ciclos de eluição. Neste experimento, a concentração de escopolamina utilizada foi de 10 mg L<sup>-1</sup>. A resposta escolhida foi a concentração de escopolamina recuperada (R) para o MIP e NIP, além da razão (relação MIP/NIP) entre as concentrações obtidas. Os resultados estão apresentados na **Tabela 2.12**.

**Tabela 2.12**– Resposta do planejamento fatorial 2<sup>3</sup> para o procedimento de dessorção de SCP

Experimento	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )		Relação MIP/NIP
	R <sub>MIP</sub>	R <sub>NIP</sub>	
1	9,52	5,06	1,88
2	15,26	16,85	0,91
3	6,60	5,55	1,19
4	14,57	14,35	1,02
5	5,14	4,27	1,20
6	21,76	15,25	1,43
7	7,48	6,37	1,18
8	10,79	10,90	0,99
p1	10,30	6,19	1,66
p2	8,00	7,92	1,01
p3	10,26	7,38	1,39

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

O resultado do procedimento de eluição que se mostrou promissor para a pré-concentração de SCP foi o representado pelo experimento 6. Neste experimento, a concentração obtida após a eluição da SCP indicou um aumento em relação a solução de SCP utilizada na extração (10 mg L<sup>-1</sup>). Foram utilizados 500 µL de metanol 100% e realizados 2 ciclos de eluição empregando o mesmo solvente. O menor volume e eluente já indicavam a possibilidade teórica de pré-concentração do analito. A relação entre MIP/NIP, igual a 1,43, garantiu que a diferença de dessorção também fosse visualizada nesta etapa. Em seguida, os efeitos das variáveis foram calculados e foram apresentados na **Tabela 2.13**. Neste caso, o volume de solvente (1) é responsável por 66,17% do efeito nos resultados obtidos, além disso o valor negativo, destaca que é o nível baixo (-) o valor a ser considerado.

**Tabela 2.13**– Avaliação das relações entre as variáveis propostas: 1 – volume de solvente, 2 – concentração metanol, 3 – ciclos de eluição

	<b>Efeito</b>	<b>%</b>
<b>1</b>	-8,41	66,17
<b>2</b>	3,06	8,76
<b>3</b>	0,195	0,04
<b>12</b>	-2,77	7,18
<b>13</b>	1,555	2,26
<b>23</b>	-1,255	1,47
<b>123</b>	3,885	14,12

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

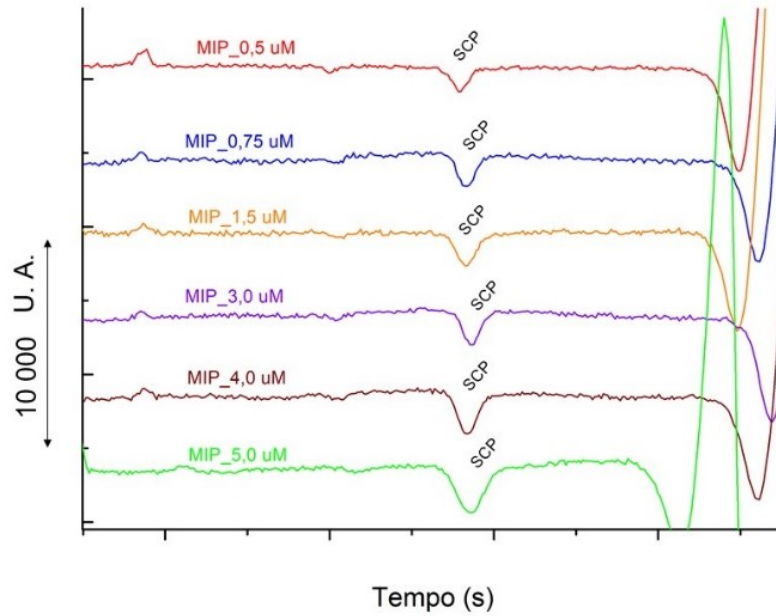
Portanto, as condições otimizadas de extração e eluição ficaram assim estabelecidas: 1 ciclo de condicionamento com água destilada, pH do meio 6, 10 mg de fase sólida, 10 ciclos de extração, 2 ciclos de eluição com 500 µL de metanol.

#### **2.4.8 Parâmetros analíticos**

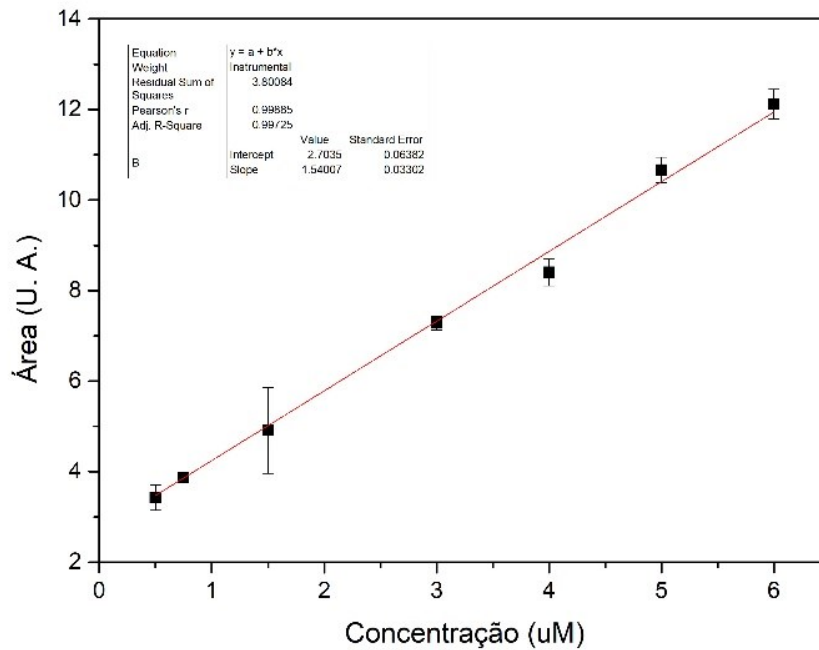
O método analítico desenvolvido teve sua performance avaliada por meio da obtenção de algumas figuras de mérito. A curva analítica para o método de pré-concentração da escopolamina foi construída utilizando as condições otimizadas. A etapa de pré-concentração melhora a capacidade de detecção e quantificação SCP. Isso é importante em amostras complexas onde os analitos podem estar presentes em baixas concentrações e serem mascarados por interferentes. Para isso, avaliou-se a linearidade na faixa de concentração de 0,5 a 6 µM, obtendo-se a área do pico eletroforético de cada solução em triplicata. Essa faixa de concentração foi escolhida pois é comumente encontrada em amostras de urina (Brown *et al.*, 2020). O trabalho apresentado por Ribeiro *et al* (2022), previamente desenvolvido para determinação de SCP em fármacos e bebidas, possui uma faixa de trabalho de 10 µM a 1000 µM utilizando as mesmas condições de separação e quantificação por CE. A curva de pré-concentração e os eletroferogramas obtidos estão apresentados na **Figura 2.17**.



(A)



(B)



**Figura 2.17–** (A) Eletroferogramas obtidos após o procedimento de pré-concentração. Pico “SCP”: Escopolamina utilizando o detector 1. (B) Curva analítica obtida após o procedimento de pré-concentração. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

O limite de detecção (LOD) representa a menor concentração de SCP que pode ser detectada. A relação entre o sinal da menor concentração e o ruído do branco foi 34. Então, o LOD foi calculado (Equação 2.5) e o valor encontrado foi 0,04 $\mu$ M. Já o limite de quantificação (LOQ) representa a menor concentração de SCP que pode ser medida e o valor encontrado foi 0,12  $\mu$ M (Equação 2.6).

A repetibilidade inter-dias foi expressa como o desvio padrão relativo de determinações de uma mesma solução de escopolamina submetida a processos de pré-concentração sucessivos (n=7). Para uma solução de 2  $\mu$ M de escopolamina, o valor de concentração obtido foi 1,77  $\pm$  0,11  $\mu$ M. O desvio padrão relativo corresponde a 6,43%. Todos os parâmetros analíticos obtidos estão descritos na **Tabela 2.14**. Além disso o desempenho analítico do método analítico MISPE com dispositivo DPX-CE desenvolvido foi comparado com estudos semelhantes para a pré-concentração de SCP em diversas amostras (**Tabela 2.15**).

**Tabela 2.14**– Parâmetros analíticos do método proposto para pré-concentração de escopolamina

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Faixa linear ( $\mu$ M)	0,50 - 6,00
Equação	$y = 1,54 [\text{scp}] + 2,72$
r	0,9988
R <sup>2</sup>	0,9972
Tempo de migração (s)	59,4 $\pm$ 1,13 s
Repetibilidade inter-dias (DPR%, n=7)	6,43%
LOD ( $\mu$ M)	0,04
LOQ ( $\mu$ M)	0,12
Recuperação 1 (2 $\mu$ M)	83,82 $\pm$ 1,5%
Recuperação 2 (6 $\mu$ M)	101,21 $\pm$ 2,3%
Fator de pré - concentração	20

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

**Tabela 2.15**– Comparação do desempenho analítico do método MISPE com dispositivo DPX-CE com estudos publicados anteriormente para pré-concentração de escopolamina.

<b>Método</b>	<b>Faixa linear (<math>\mu\text{M}</math>)</b>	<b>Amostra</b>	<b>REF.</b>
MISPE com DPX-CE	0,5 – 6	Urina sintética	Este trabalho
MISPE – HPLC – UV	91 – 82	Extrato de plantas	(Zuo <i>et al.</i> , 2019)
RP-HPLC – UV	2,28 – 228	Urina real	(Theodoridis <i>et al.</i> , 2003)
CE - ELC	10 – 1000	<i>Flos daturae</i>	(Gao; Tian; Wang, 2005)
CE - C <sup>4</sup> D	100 – 350	Medicamento	(Cunha <i>et al.</i> , 2017)
CE - C <sup>4</sup> D	10 – 1000	Medicamento e bebidas	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2022)

**Fonte:** adaptado (Silva *et al.*, 2022c)

Comparando o desempenho analítico do método proposto com estudos semelhantes para a pré-concentração de SCP em diversas amostras (conforme Tabela 2.15), observamos vantagens significativas. A faixa linear está em concentrações menores, além da proposta de miniaturização do preparo de amostras e o uso de MIPs como FE. Em conjunto, os resultados obtidos na validação e comparação reforçam a viabilidade do método analítico desenvolvido, sugerindo sua aplicabilidade promissora para a determinação de SCP em amostras reais. O enfoque na miniaturização e na tecnologia MIPs contribui para aprimorar a eficiência e a especificidade da análise, evidenciando o potencial do método para contribuir significativamente em estudos relacionados a compostos SCP em diversas matrizes.

#### **2.4.9 Aplicação em amostras de urina sintética**

Depois da obtenção dos parâmetros analíticos do método proposto para extração e pré-concentração da escopolamina utilizando MISPE combinado com DPX-CE, foi avaliada a aplicação do método em amostras de urina sintética. As amostras de urina sintética foram preparadas de acordo com o descrito na seção 2.3.13, em seguida foram fortificadas em dois níveis de concentração de SCP: 2  $\mu\text{M}$  e 6  $\mu\text{M}$  com pH ajustado para 6.

Após o preparo dos dispositivos DPX com MIP, as amostras de urina sintética

foram submetidas ao método proposto e a recuperação foi avaliada. O ensaio recuperação avalia a eficiência do método desenvolvido. Os valores de recuperação de SCP encontrados foram 1,7  $\mu\text{M}$  e 6,1  $\mu\text{M}$ , representando  $83,8 \pm 1,5\%$  e  $101,2 \pm 2,3\%$ , respectivamente. Com os valores obtidos, pode-se concluir que o parâmetro de recuperação foi adequado uma vez que os valores obtidos estão dentro do intervalo aceitável de 80 a 110% (INMETRO, 2010).

## 2.5 Conclusão

O polímero molecularmente impresso sintetizado utilizando como MF a acrilamida revelou um notável potencial para aplicação como pré-concentração de SCP em amostras de urina sintética. O MIP-ACR apresentou uma boa religação, tanto em ensaios batelada quanto no dispositivo DPX, além de uma boa seletividade quando comparado a moléculas análogas.

Destaca-se que a utilização da dinâmica molecular (DM) como ferramenta teórica para triagem da seleção do MF revelou-se uma opção interessante para definir de maneira racional a melhor estratégia de síntese. O monômero mais adequado que simulado destacou-se nos resultados experimentais apresentando os melhores valores de FI. Com isso, a DM pode ser cogitada como uma alternativa para auxiliar no preparo e elaboração de MIPs, valendo a pena novos estudos como este para validar a eficiência da metodologia proposta neste trabalho.

Com a aplicação miniaturizada de SPE, na forma de dispositivo DPX, com MIP como fase extratora foi possível aumentar a detectabilidade da SCP e consequentemente aplicar a CE como técnica para quantificação. O limite de quantificação (LOQ) alcançado, de 0,12  $\mu\text{M}$ , sugere que concentrações ainda menores podem ser investigadas, abrindo possibilidades para novas aplicações e aprofundamento em estudos futuros. Além do ganho em sinal analítico, foi possível propor um método de preparo de amostra com uso reduzido de reagentes e fase sólida, diminuindo assim a geração de resíduos.

Visto todas as vantagens do MIP-ACR desenvolvido, está em andamento como projeto de iniciação científica, o desenvolvimento de colunas com MIP-ACR para extração de escopolamina em bebidas. Os resultados preliminares indicam uma promissora aplicabilidade da fase sólida desenvolvida, consolidando perspectivas para aplicações práticas e inovadoras nesse campo.

### 3 SÍNTESE DE POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO FLUORESCENTE PARA APLICAÇÃO COMO SENSOR NA DETERMINAÇÃO DE CAPTOPRIL EM AMOSTRAS DE URINA SINTÉTICA E EFLUENTE

#### 3.1 Introdução

O Captopril (CPT), (1-(2S)-3-mercapto-2-metil-1-oxopropil)-L-prolina, é considerado o inibidor pioneiro da enzima conversora da angiotensina (IECA) oralmente ativo e é aplicado no tratamento da hipertensão e insuficiência cardíaca congestiva (Odaka; Mizuochi, 2000). Descoberto no Brasil na década de 1960 pelo médico e aluno de pós-graduação no Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP), que a isolaram do veneno da *Bothrops jararaca*, conhecida como jararaca-da-mata, um princípio ativo capaz de potencializar a bradicinina (um vasodilatador, que age no sentido de reduzir a pressão dos vasos arteriais) (SBPC,2014), que seria precursor do captopril, medicamento anti-hipertensivo mais utilizado no mundo (Academia Brasileira de Ciências, s. d.). No Brasil, o CPT está listado na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), ferramenta fundamental de ação no Sistema Único de Saúde (SUS) alcançando ampla utilização e distribuição à população (Ministério da Saúde, 2022).

Após a ingestão de CPT, uma porção substancial (cerca de 40 a 60%) não é metabolizada pelo sistema hepático e é excretada pela urina (Leopold, 1986 *apud* Abdel-Megied *et al.*, 2023, p.1), podendo atingir os cursos de água residuária (Giudicelli *et al.*, 1984). As estações de tratamento de água (ETA) e esgoto (ETE) carecem de uma etapa dedicada à remoção ou decomposição de medicamentos, o que pode acarretar no aumento da concentração de captopril em águas superficiais e residuais (Orona-Návar *et al.*, 2018); (Cunha *et al.*, 2020). A medida que a concentração de fármacos no ambiente continua a aumentar, estas substâncias representam uma preocupação crescente para a saúde humana (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017).

Diversas substâncias têm sido consideradas potenciais poluentes emergentes (do inglês *Potential Emerging Pollutants* - PEPs) e incluem predominantemente produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais, produtos químicos desreguladores endócrinos, antibióticos, entre outros (Liu; Zhang, 2020). Os PEPs são definidos como poluentes sintéticos ou naturais detectados em corpos d'água, potencialmente levando a efeitos negativos para a saúde humana (Cunha *et al.*, 2020). A ocorrência

de PEPs em fluxos de águas residuais em baixas concentrações foi documentada em numerosos estudos, com CPT sendo encontrado em concentrações de  $13 \mu\text{g L}^{-1}$  (Orona-Návar *et al.*, 2018); (Salgado *et al.*, 2010). A presença dessas substâncias podem resultar em efeitos negativos sobre os lençóis freáticos, no equilíbrio químico dos solos e podem ocasionar problemas de saúde nos seres humanos (Montagner; Vidal; Acayaba, 2017). Portanto, o desenvolvimento de métodos analíticos para quantificação de medicamentos em matrizes ambientais e que sejam simples e confiáveis é essencial.

Vários métodos analíticos foram relatados para a determinação de CPT utilizando diferentes técnicas analíticas, incluindo métodos eletroquímicos (Ensafi *et al.*, 2011), sensores amperométricos (Wong; Lanza; Sotomayor, 2010), fluorescência (Fu *et al.*, 2022); (Han *et al.*, 2022) e quimiluminescência (Liu, Xiaoqing; Li; Song, 2015). Além disso, técnicas de separação têm sido utilizadas para fins de quantificação, como Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa (do inglês *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* - LC-MS (Logoyda *et al.*, 2021) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) com detecção de absorção no UV (El-Gindy *et al.*, 2014).

Como mencionado seção 2.1.2, os polímeros molecularmente impressos (MIPs) foram inicialmente utilizados para extração seletiva de analitos de matrizes complexas (Wang, Y. *et al.*, 2018); (Sirumapea *et al.*, 2021). Além disso, a capacidade de reconhecimento molecular dos MIPs permite sua aplicação como receptor em sensores químicos (Liu; Ko, 2023). Várias técnicas têm sido empregadas para a síntese de MIPs, incluindo polimerização em *bulk* (Silva *et al.*, 2022c), sistemas de impressão em sílica sol-gel (Wang, F. *et al.*, 2021), impressão em superfície (Fernandes, R. S. *et al.*, 2017), co-precipitação (Wang *et al.*, 2020), suspensão (Dourado *et al.*, 2021) e polimerizações em emulsão (Suzaei *et al.*, 2023).

A polimerização sol-gel é frequentemente usada para MIPs inorgânicos, particularmente à base de sílica (Si-MIP) (Li *et al.*, 2022). Em comparação com os MIPs orgânicos, os Si-MIPs são ecologicamente amigáveis, facilmente degradáveis após o uso e sintetizados à temperatura ambiente (Geng *et al.*, 2018). A integração de MIPs com nanopartículas inorgânicas produz materiais com tamanho e distribuição de partículas definidos, facilitando a funcionalização por meio da seleção apropriada do nanomaterial (Ansari; Karimi, 2017); (Martín-Esteban, 2022). Os Si-MIPs oferecem diversas vantagens, incluindo maior relação superfície-volume, maior acessibilidade

às cavidades impressas devido à remoção facilitada da molécula molde (MM), recursos aprimorados de reconhecimento e resistência reduzida à transferência de massa (Fresco-Cala; Batista; Cárdenas, 2020).

### 3.1.1 Polímeros molecularmente impresso fluorescentes (FMIPs)

Sensores químicos são desenvolvidos com objetivo de se obter informações qualitativa e/ou quantitativas a respeito de substâncias químicas. O componente central do sensor químico é o receptor, que interage com determinadas substâncias, permitindo uma detecção seletiva. Assim sendo, os MIPs são materiais vantajosos para aplicação como receptores em sensores químicos, capaz de se ligar de maneira altamente seletiva à molécula-alvo (Chen *et al.*, 2016). Adicionalmente, os MIPs podem ser facilmente integrados a uma variedade de transdutores, por exemplo elétricos e ópticos, conferindo-lhes uma versatilidade e sensibilidade. Dentre os sensores ópticos, os Si-MIP, os Si-MIPs fluorescentes vêm ganhando atenção devido à combinação da seletividade da impressão molecular com a alta sensibilidade e respostas rápidas associadas à fluorescência. A medição da fluorescência oferece uma ferramenta simples e sensível para detectar diferentes analitos. No entanto, a maioria dos analitos químicos não são fluorescentes. A fim de reconhecer e quantificar diretamente tais moléculas alvo, os corantes fluorescentes podem ser integrados em uma matriz de Si-MIP resultando nos Si-FMIPs (Wang, Y. *et al.*, 2020).

A síntese de MIPs inorgânicos de sílica fluorescentes (Si-FMIPs) (Li, Q. *et al.*, 2022) resulta em sensores com ótimo desempenho (Wang, Y. *et al.*, 2020), (İlktaç, 2022), amplia as opções de aplicações, até mesmo em matrizes complexas. Estas características têm sido particularmente vantajosas em análises médicas e biológicas (Ferreira *et al.*, 2021). Além disso, a solubilidade em água, bem como da disponibilidade comercial de silanos funcionais, as nanopartículas (NPs) de sílica são uma plataforma versátil e altamente adaptável para incorporar ou enxertar pequenas moléculas funcionais, biomoléculas ou mesmo outras NPs. Existem vários métodos diferentes para a preparação de Si-FMIP, mas a estratégia *one-pot* tem se destacado pela facilidade de preparação, agilizando o processo de preparação e encurtando o ciclo experimental, preservando a eficácia de detecção (Hu, Y. *et al.*, 2018); (Huang, Y. *et al.*, 2021).

A produção de nano-MIPs pode ocorrer através da combinação de uma interface polimérica impressa com nanopartículas inorgânicas ou pela síntese direta

de nanopartículas-MIP. A integração de MIPs com nanopartículas inorgânicas resulta em materiais com tamanhos e distribuições de partículas predefinidos, oferecendo flexibilidade na funcionalização mediante a escolha criteriosa de nanomateriais. Além disso, tem-se demonstrado que a sensibilidade e seletividade alcançadas com nanopartículas inorgânicas revestidas por MIP são superiores quando comparadas à resposta média de seus componentes individuais (Ashutosh Tiwari; Lokman Uzun, 2017). Materiais como nanopartículas de ouro (Au), prata (Ag), sílica (SiO<sub>2</sub>), pontos quânticos (do inglês *Quantum Dots* - QDs) e óxido de ferro (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) têm sido extensivamente empregados como elementos centrais para apoiar o processo de impressão superficial da MM em seu invólucro polimérico (Wang, Y. *et al.*, 2020). O **Quadro 3.1** apresenta alguns trabalhos que combinaram NPs com FMIPs.

**Quadro 3.1**– Aplicações de Polímeros Molecularmente Impressos Fluorescentes.

<b>MM</b>	<b>Abordagem MIPs</b>	<b>REF.</b>
<b>Canamicina</b>	Funcionalização com aptâmero fluorescente;	(Geng <i>et al.</i> , 2018)
<b>Paracetamol</b>	Co-precipitação <i>one-pot</i> , poli(9-vinilcarbazol) (PVK) como fluoróforo;	(Wang, J. <i>et al.</i> , 2020)
<b>Naringina</b>	MIPs magnéticos e fluorescentes (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /FITC- isotiocianato de fluoresceína);	(Zhao; Ren; Li, 2022)
<b>Sulfapiridina</b>	Síntese <i>one-pot</i> usando pontos quânticos de ZnS dopados com Mn (QDs) como núcleo fluorescente;	(Hu, Y. <i>et al.</i> , 2018)
<b>Moxidectina</b>	Polímeros de impressão de resposta dupla magnética e fluorescente (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /FITC- isotiocianato de fluoresceína);	(Wang, P. <i>et al.</i> , 2017)
<b>Ciprofloxacina</b>	Si-FMIPs foram sintetizadas por polimerização por precipitação contendo FITC;	(Wu, C. <i>et al.</i> , 2018)
<b>Cipermetirina</b>	Nanopartículas de SiO <sub>2</sub> encapsuladas com um polímero impresso molecularmente contendo alil-fluoresceína;	(Wang, Y. <i>et al.</i> , 2018)
<b>Naproxeno</b>	Si-FMIPs síntese <i>one-pot</i> usando FITC como fluoróforo;	(Wang, F. <i>et al.</i> , 2021)

**Fonte:** Elaborada pela autora (2024)

### 3.1.2 Espectroscopia de Fluorescência

A fluorimetria, também conhecida como espectrofluorimetria, é uma modalidade da espectroscopia eletromagnética dedicada à medição da intensidade



de fluorescência de uma amostra. Durante o processo de medição, os elétrons das espécies químicas presentes na amostra são excitados pela energia proveniente da radiação eletromagnética incidente. Em seguida, parte da energia absorvida é dissipada na forma de radiação com energia menor do que a absorvida. O comprimento de onda da radiação emitida é maior do que o comprimento de onda absorvido, uma vez que a energia emitida é inferior àquela utilizada para a excitação. Adicionalmente, observa-se que a intensidade da fluorescência está diretamente relacionada à concentração do composto fluorescente (Vogel *et al.*, 2002)

A técnica de espectrometria de fluorescência oferece várias vantagens, tais como, maior sensibilidade, seletividade, técnica não destrutiva e equipamentos de mais baixo custo, quando comparados a técnicas de separação. Ela permite a detecção de concentrações em níveis de  $\mu\text{M}$  e  $\text{nM}$ , sendo útil em análises de traços (Vogel *et al.*, 2002). Além disso, por ser não destrutiva, as amostras podem ser analisadas por outras técnicas de forma complementar, caso haja necessidade (Sotomayor *et al.*, 2008); (Skoog, *et al.* 2006).

Apesar de ser uma técnica analítica útil, a fluorescência apresenta algumas desvantagens que podem restringir sua aplicação em certos contextos. Interferências de fundo em amostras complexas, variações na matriz da amostra, e sensibilidade a condições experimentais como temperatura e pH podem impactar a exatidão dos resultados. Além disso, nem todos os compostos exibem propriedades fluorescentes, limitando a aplicabilidade da técnica a certas classes de substâncias. (Wang, Y. *et al.*, 2020).

## 3.2 Objetivos

Considerando que o desenvolvimento de polímeros molecularmente impressos à base de nanopartículas de sílica representa um avanço importante na elaboração de sensores seletivos, o presente trabalho tem como objetivo geral sintetizar um Si-FMIP para determinação de CPT empregando a espectrometria de fluorescência como técnica analítica.

### 3.2.1 Objetivos específicos

- i. Empregar a estratégia *one-pot* para preparo de Si-FMIPs;
- ii. Sintetizar e caracterizar Si-FMIP;

- iii. Verificar a seletividade do Si-FMIP com moléculas similares;
- iv. Otimizar as condições de determinação de CPT;
- v. Desenvolver um método analítico baseado na supressão de fluorescência de nanopartículas com impressão molecular para quantificação seletiva de captopril em amostras de urina sintética e águas residuais.

### 3.3 Materiais e métodos

#### 3.3.1 Reagentes e soluções

Todos os produtos químicos, padrões e solventes utilizados foram de grau analítico, e todas as soluções foram preparadas com água ultrapura ( $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) do sistema de purificação de água Direct-Q 3UV (Millipore, Molsheim, França).

Para a síntese dos polímeros foram utilizados: captopril (98%, CPT), 3-aminopropiltriétoxissilano (99%, APTES), tetraetilortossilicato (99%, TEOS), isotiocianato de fluoresceína (97%, FITC), adquiridos da Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha). Metanol foi obtido da Dinâmica (São Paulo, Brasil). Por fim, o hidróxido de amônio (37%) e o etanol (99,9%) foram adquiridos da Synth (São Paulo, Brasil). Outros reagentes, tais como: norfloxacin (98%), metronidazol (97%), ciprofloxacina (98%), dipirona (98%), diclofenaco (98%), ofloxacina (98%), creatinina (98%), hidroclorotiazida (97%), amoxicilina (98%), a doxiciclina (98%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

Os reagentes utilizados na preparação da urina sintética, como ácido cítrico (99%), ácido ascórbico (99%) e sulfato de sódio (99%) foram adquiridos da Vetec (Duque de Caxias, Brasil). Bicarbonato de sódio (99%), cloreto de cálcio di-hidratado (78%), cloreto de sódio (99%) e cloreto de amônio (99%) foram obtidos da Synth (São Paulo, Brasil). O hidrogenofosfato de potássio (99%) e o di-hidrogenofosfato de potássio (99%) foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Por fim, ureia (99%), ácido úrico (99%) e sulfato de magnésio hepta-hidratado (99%) foram adquiridos da Dinâmica, Sigma-Aldrich e Neon (Suzano, Brasil), respectivamente. A ninhidrina (98%) foi adquirida da Neon.

#### 3.3.2 Instrumentação

Os polímeros sintetizados foram lavados com etanol e separados em uma centrífuga universal da marca Hettick, modelo Zentrifugen. Quando necessário, o

ajuste de pH das amostras e das soluções de trabalho foi realizado com o pHmetro digital da marca Kasvi, modelo K39-1420 A e soluções de NaOH e HCl, ambas 0,50 mol L<sup>-1</sup>. O homogeneizador NORTE CIENTÍFICA Mod NH-2200 foi utilizado para os ensaios de religação do analito. Além desses equipamentos, uma balança analítica - GEHAKA - Modelo AG200 e um ultrassom da marca Ultronique, modelo Q3.0, foram utilizados.

As análises cromatográficas para quantificação de CPT foram realizadas utilizando um equipamento Shimadzu Modelo 20A acoplado a um detector SPD-20A UV/Vis com medidas de absorvância em comprimento de onda 220nm, com amostrador automático SIL-20A e um degaseificador DGU-20A5 pertencente ao grupo NANOBIMIMETIC *sensors* (Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"). As separações foram realizadas em coluna de fase reversa C-18 SHIM-PACK CLC ODS (5 µm, 4.6mm x 250mm). A fase móvel empregada foi composta de 65% metanol e 35% tampão fosfato pH 8 (30 mM) e a corrida cromatográfica foi realizada no modo isocrático com vazão de 0,8 mL min<sup>-1</sup>.

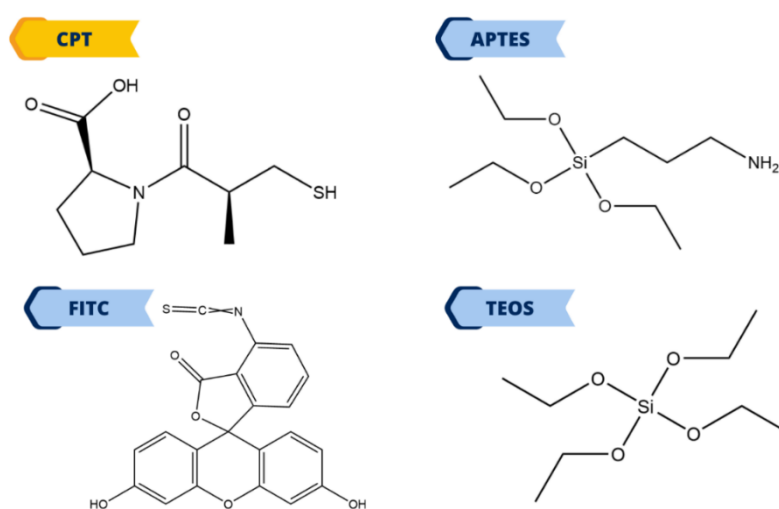
Os experimentos de fluorescência foram realizados em um espectrômetro Panorama Fluorat-02. As medições de absorvância no UV foram realizadas em espectrofotômetro UV/vis da Agilent Technologies modelo Cary 60. A carga superficial dos polímeros foi determinada por um Analisador de Potencial Zeta, modelo Zetasizer Nano S90 da marca Malvern Panalytical. Para isso, 2,0 mg do polímero foi disperso em 2,0 mL de água, todos estes equipamentos pertencentes ao grupo NANOBIMIMETIC *sensors* (Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho").

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos por um espectrofotômetro FT-IR Frontier Single Range – MIR da Perkin Elmer, na região compreendida entre 4000 e 500 cm<sup>-1</sup>. As análises das amostras foram feitas no estado sólido, com a utilização do acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante. O espectrofotômetro utilizado pertence ao Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT) localizado no Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM) do Instituto de Química da UFU.

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (do inglês "*Transmission Electron Microscope*" -TEM) foram obtidas em um JEOL-JEM2100 com filamento LaB<sub>6</sub> (hexaboreto de lantânio), operado a 200 kV, pertencente ao Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Química de São Carlos-USP (LME-IQSC).

### 3.3.3 Síntese de nanopartículas fluorescentes com impressão molecular (Si – FMIP) e nanopartículas não impressas (Si-FNIP)

Para o preparo dos Si-FMIPs, inicialmente o monômero funcional fluorescente (FITC-APTES) foi sintetizado. O procedimento foi adaptado por Li *et al.* (2021) e colaboradores: 0,04 mmol de FITC foi dissolvido em 8 mL de etanol seguido pela adição de 0,04 mmol de APTES. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 24 horas e o solvente foi removido por evaporação à vácuo. As estruturas dos reagentes envolvidos na preparação destes polímeros estão apresentadas na **Figura 3.1**.



**Figura 3.1**– Estruturas da molécula molde (CPT), monômero funcional (APTES), fluoróforo (FITC), precursor da sílica (TEOS). **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Após a preparação do FITC-APTES, deu-se início as sínteses dos Si-FMIPs via sol-gel, seguindo o procedimento adaptado por Li *et al.* (2021). Foram realizadas quatro sínteses de Si-FMIPs (A, B, C e D) utilizando CPT como molécula molde (MM) e variando as quantidades dos outros reagentes. Os valores empregados para cada um dos componentes são apresentados na **Tabela 3.1**.

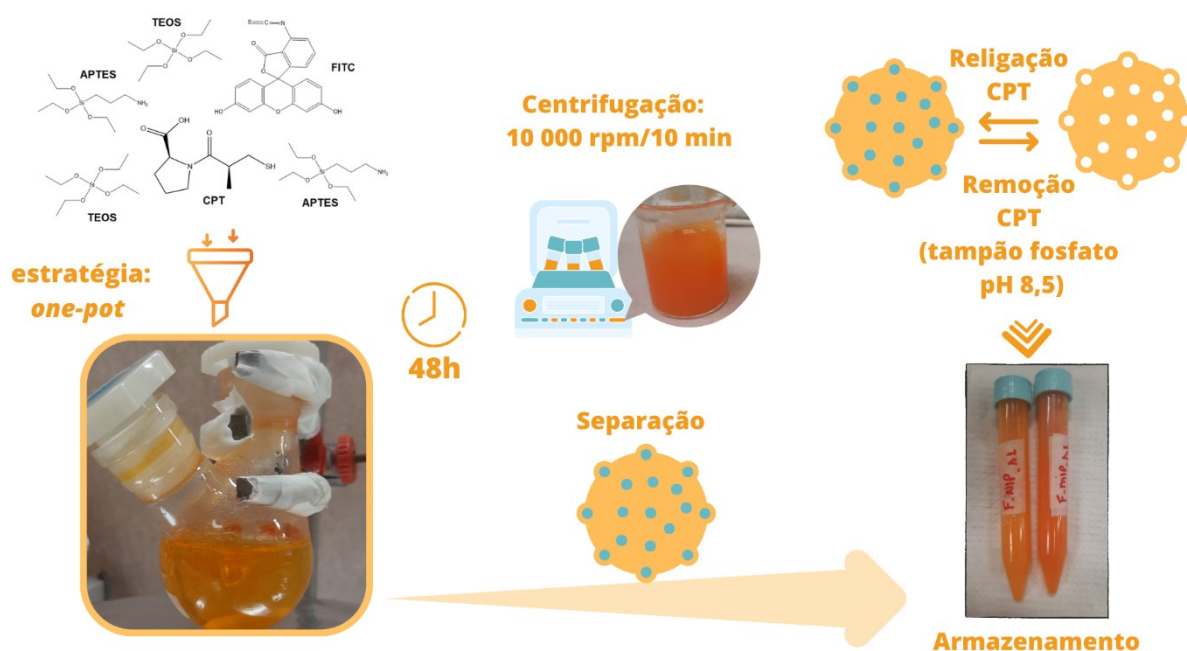
As reações de polimerização dos Si-FMIPs foram preparados usando a estratégia *one-pot*, ou seja, a síntese aconteceu em um único recipiente (Wang, F. *et al.*, 2021). Para isso, o seguinte procedimento foi realizado: 0,1 mmol de CPT (molécula molde - MM) foi dissolvido em uma mistura de água/etanol (8 mL/3 mL) em um frasco de vidro sob agitação magnética seguido pela adição de APTES. A mistura foi agitada durante 30 min. Posteriormente, foram adicionados o FITC-APTES solubilizado em etanol e 0,5 mL de uma solução etanólica de TEOS, gota a gota. Finalmente, foram adicionados 200  $\mu$ L de hidróxido de amônio e a mistura foi agitada

por 48 horas em temperatura ambiente. A suspensão resultante foi sonicada durante 15 min e as partículas foram coletadas por centrifugação a 10.000 rpm durante 10 min e lavadas com etanol. Em seguida, foram realizadas sucessivas lavagens com tampão fosfato (50 mM, pH 8,5) para remoção da molécula molde. Polímeros fluorescentes não-impressos (Si-FNIPs) foram preparados seguindo o mesmo procedimento descrito, porém sem a adição de CPT. A **Figura 3.2** ilustra o procedimento de síntese.

**Tabela 3.1**– Quantidade de reagentes utilizados na síntese de Si-FMIP e Si-FNIP.

Polímero	MM (mmol)	APTES (mmol)	TEOS (mmol)	FITC-APTES (mmol)
Si – FMIP <sub>A</sub>	0,1	0,3	1,0	0,01
Si – FNIP <sub>A</sub>	0	0,3	1,0	0,01
Si – FMIP <sub>B</sub>	0,1	0,3	1,0	0,005
Si – FNIP <sub>B</sub>	0	0,3	1,0	0,005
Si – FMIP <sub>C</sub>	0,1	0,6	1,0	0,005
Si – FNIP <sub>C</sub>	0	0,6	1,0	0,005
Si – FMIP <sub>D</sub>	0,1	0,3	2,0	0,005
Si – FNIP <sub>D</sub>	0	0,3	2,0	0,005

Fonte: Elaborado pela Autora (2023).



**Figura 3.2**– Fluxograma do preparo dos polímeros Si-FMIP/Si-FNIP. Fonte: Elaborado pela Autora (2024).

### 3.3.4 Medidas de fluorescência

Suspensões de Si-FMIP e Si-FNIP com concentração de 2 mg mL<sup>-1</sup> foram preparadas em mistura água/etanol (1:1). A intensidade inicial de fluorescência ( $I_0$ ) foi registrada em 520 nm com excitação em 490 nm. Após adição de um volume adequado do analito, a suspensão foi agitada por 15 min e a intensidade final de fluorescência ( $I$ ) foi adquirida. O sinal analítico ( $I_R$ ) foi considerado a supressão relativa da intensidade de fluorescência, conforme descrito na equação:

$$I_R = \frac{(I_0 - I)}{I_0} \quad (3.1)$$

### 3.3.5 Otimizações das condições de religação do CPT: solvente, concentração da suspensão de Si-FMIP/Si-FNIP, tempo de contato

O solvente utilizado para o preparo das suspensões contendo Si-FMIP pode influenciar na intensidade de fluorescência, com isso afetar o sinal referente a religação do CPT. Por isso, a religação do CPT foi realizada em quatro condições: água, etanol, mistura água: etanol, tampão fosfato (pH 8,5). Neste experimento, suspensões foram preparadas na concentração de 2 mg mL<sup>-1</sup> nos diferentes solventes mencionados. Em seguida, foram adicionados 50 µL de uma solução de CPT na concentração de 500µM. Essa mistura foi agitada por 15 min e medidas de fluorescência foram realizadas antes e depois da adição de CPT.

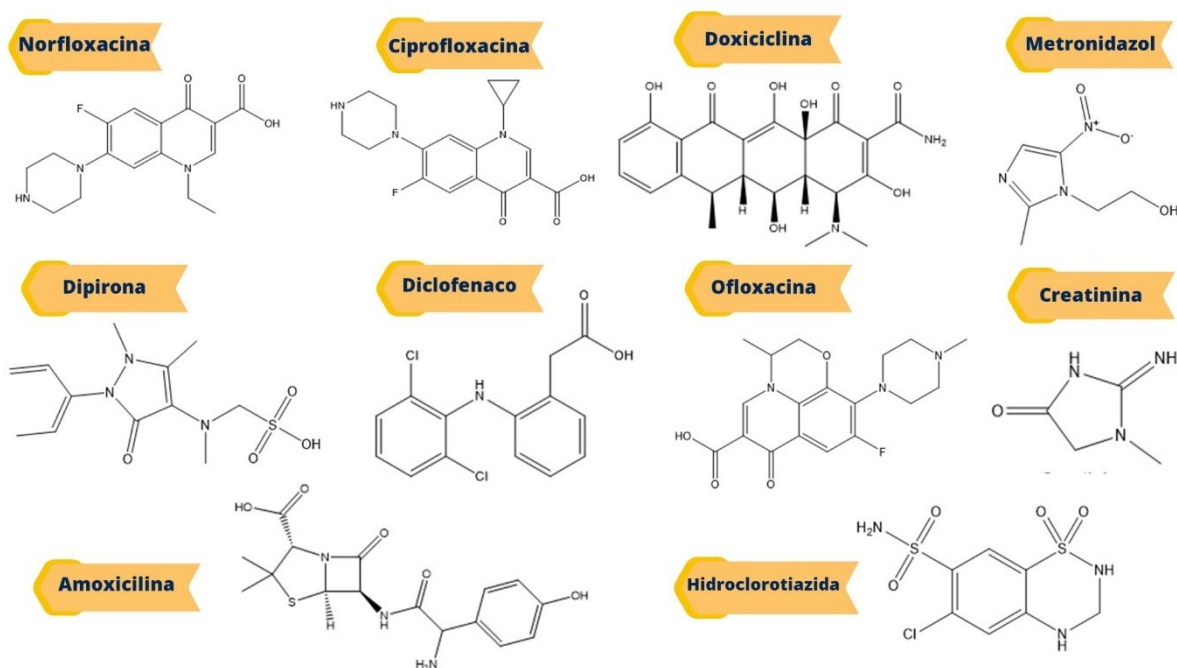
Em seguir, foi examinada a influência da concentração da suspensão de Si-FMIP na intensidade do sinal analítico. Para isso, suspensões na faixa de 0,75 a 2 mg mL<sup>-1</sup> foram avaliadas. Neste procedimento, as suspensões foram preparadas em diferentes concentrações, logo depois foram adicionados 50 µL de uma solução de CPT na concentração de 1500 µM. As misturas foram agitadas por 15 min e medidas de fluorescência foram realizadas antes e depois da agitação com CPT.

Depois, avaliou-se o comportamento do sinal analítico do Si-FMIP e Si-FNIP em função do tempo de contato. Para determinar o tempo de equilíbrio, 20 µL de uma solução de 2,5 mM de CPT foram adicionados a 50 µL de suspensões de Si-FMIP na concentração de 500 mg mL<sup>-1</sup> e o volume ajustado para 5 mL. A mistura foi agitada em um homogeneizador rotativo a 10 rpm e as medições de fluorescência foram capturadas em diferentes intervalos de tempo variando de 1 a 50 minutos. Os experimentos foram realizados em triplicata.

### 3.3.6 Estudo da seletividade

A capacidade do Si-FMIP de reconhecer seletivamente o CPT foi avaliada comparando o sinal analítico obtido após contato com outras moléculas. Para isso, 20  $\mu\text{L}$  de uma suspensão de Si-FMIP na concentração de  $500 \text{ mg mL}^{-1}$  foram adicionados a 5 mL da solução interferente na concentração de  $25 \mu\text{M}$  e agitados por 15 min.

A seletividade do Si-FMIP e Si-FNIP para o reconhecimento do CPT foi avaliada utilizando diversas moléculas, tais como: norfloxacina e ciprofloxacina (antimicrobiano), metronidazol (antiprotozoário), dipirona (analgésico e antitérmico), diclofenaco (antimicrobiano não esteroidal, agente inflamatório), ofloxacina, amoxicilina e doxiciclina (antibióticos), creatinina (diurético) e hidroclorotiazida. As estruturas das moléculas avaliadas estão apresentadas na **Figura 3.3**.



**Figura 3.3**– Estruturas das substâncias utilizadas na verificação da seletividade do Si-FMIP. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

O fator de impressão para as moléculas testadas ( $FI_{\alpha}$ ) e o coeficiente de seletividade relativa ( $\beta$ ) em relação ao CPT foram calculados da seguinte forma (Mortari *et al.*, 2021; Zuo *et al.*, 2019; Fernandes, R. S. *et al.*, 2017):

$$FI_{\alpha} = \frac{(I_R)_{MIP}}{(I_R)_{CPT}}, \quad (3.2)$$

$$\beta = \frac{FI_{CPT}}{FI_{\alpha}}, \quad (3.3)$$

Onde:  $(I_R)_{MIP}$  e  $(I_R)_{NIP}$  são a diminuição da intensidade de fluorescência relativa de Si-FMIP ou Si-FNIP após religação dos analitos, respectivamente.

### 3.3.7 Parâmetros analíticos

Alguns parâmetros analíticos foram determinados com o intuito de avaliar o desempenho do procedimento proposto, tais como linearidade, sensibilidade do método, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), repetibilidade e recuperação em amostras.

Os limites de detecção e quantificação foram avaliados pelos parâmetros da curva analítica, os limites foram expressos (INMETRO, 2010); (Thompson; Ellison; Wood, 2002):

$$LOD = 3,3 \frac{DP_b}{S} \quad (3.4)$$

$$LOQ = 10 \frac{DP_b}{S} \quad (3.5)$$

Onde:  $DP_b$  = o desvio padrão das medidas do branco;  $S$  = o coeficiente angular da curva analítica.

A repetibilidade foi expressa como o desvio padrão relativo de uma série de medidas ( $n=10$ ). O desvio foi calculado de acordo com a equação (Ribeiro *et al.*, 2022):

$$DPR = \frac{DP_x}{\bar{X}} * 100 \quad (3.6)$$

Onde:  $DP_x$  = o desvio padrão da concentração encontrada;  $\bar{X}$  = concentração média encontrada para a série de medidas.

A recuperação foi avaliada adicionando-se quantidades conhecidas de CPT a uma amostra de urina sintética e águas residuais. A relação entre a quantidade adicionada e recuperada é o fator de recuperação (R), calculada pela equação (INMETRO, 2010); (Ribani *et al.*, 2004):

$$\% R = \frac{[CPT]_r}{[CPT]_a} * 100 \quad (3.7)$$

Onde:  $[CPT]_r$  é a concentração de CPT recuperada ( $mg L^{-1}$ );  $[CPT]_a$  é a concentração de CPT adicionada ( $mg L^{-1}$ ).



### 3.3.8 Aplicação em amostras de urina sintética e efluente

Amostras de urina sintética e águas residuais (efluentes) foram utilizadas para avaliar o desempenho do Si-FMIP desenvolvido. As amostras de urina sintética foram preparadas de acordo com o procedimento descrito por Brooks e colaboradores, já mencionado no capítulo anterior. Para isso, foram adicionados em 250 mL de água deionizada: 0,1 g de ácido cítrico, 0,093 g de ácido ascórbico, 0,525 g de bicarbonato de sódio, 2,5 g de ureia, 0,0175 g de ácido úrico, 0,01 g de cloreto de cálcio di-hidratado, 1,3 g de cloreto de sódio, 0,353 g de sulfato de sódio, 0,123 g de sulfato de magnésio hepta-hidratado, 0,325 g de cloreto de amônio, 0,238 g de hidrogenofosfato de potássio e 0,305 g de di-hidrogenofosfato de potássio. Em seguida, a amostra foi transferida para um frasco âmbar e armazenada na geladeira (Brooks; Keevil, 1997).

A amostra de efluente foi coletada em uma estação de tratamento de efluentes (ETE) convencional, após a etapa de tratamento. As amostras foram filtradas com filtros de seringa (PES - polietersulfona) com porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$  e diâmetro de 30 mm para remoção de suspensões sólidas. Em seguida, as amostras foram armazenadas sob refrigeração (4 °C) em frascos plásticos descontaminados.

Para a determinação de CPT, 5 mL de cada amostra foram misturados com 20  $\mu\text{L}$  da suspensão Si-FMIP (500 mg mL<sup>-1</sup>), agitados por 15 min e a intensidade de fluorescência foi medida em 520 nm. Cada amostra foi analisada em triplicata.

## 3.4 Resultados e discussões

### 3.4.1 Preparação do Si-FMIP/Si-FNIP

Os polímeros molecularmente impressos fluorescentes baseados em nanopartículas de sílica (Si-FMIPs) foram preparados usando a estratégia *one-pot*, ou seja, todas as etapas foram realizadas em um único meio reacional. Este tipo de metodologia possui facilidade na execução do procedimento de síntese e diminui o consumo de reagentes (Huang, Y. *et al.*, 2021). Nesta síntese, o FITC-APTES foi utilizado como monômero fluorescente, CPT como molécula molde, APTES como monômero funcional e catalisador (Wang, J. *et al.*, 2021) e o TEOS com ligante cruzado e precursor de sílica (Wang, F. *et al.*, 2020). A proporção de cada um dos reagentes pode influenciar na seletividade e na capacidade de adsorção dos polímeros impressos, por isso, quatro sínteses foram realizadas, sendo nomeadas

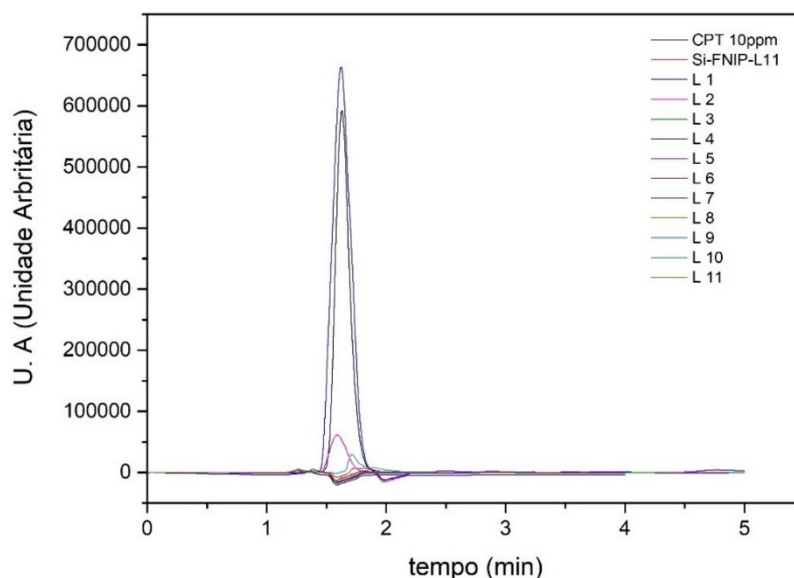
como A, B, C e D. As proporções de cada síntese foram apresentadas na seção 3.3.3, Tabela 3.1.

Após a síntese, os polímeros obtidos foram centrifugados e separados. Em seguida foram realizadas sucessivas lavagens com tampão fosfato (50 mM, pH 8,5) para remoção completa de CPT. Este procedimento consistiu na adição de 10 mL de tampão fosfato ao material sintetizado, seguidos de 10 min de agitação e depois 10 min de centrifugação. Ao final de cada etapa, alíquotas foram recolhidas e levadas para análise cromatográfica. Durante a mistura do tampão com os Si-FMIPs ocorre a desprotonação do grupo ácido carboxílico presente na molécula de CPT, diminuindo as interações entre o CPT e o MF, assim ocorre a remoção da MM e, conseqüentemente, a formação de sítios complementares para interações posteriores do analito. Foram realizadas 11 etapas de lavagem (L1-11) consecutivas e fotos dos sobrenadantes recolhidos estão apresentados na **Figura 3.4-A**. Como pode ser observado, na última etapa de lavagem já não se observa mais nenhuma coloração no sobrenadante, indicando que qualquer excesso de reagente já foi removido. Além dessa análise qualitativa, a análise cromatográfica dos sobrenadantes (**Figura 3.4-B**) indicou que esse número de etapas de lavagem foi suficiente para a remoção de CPT, pois não se observou o pico referente ao CPT no cromatograma do sobrenadante da última etapa (L11). Os Si-FNIPs também foram submetidos a estas etapas de lavagem, garantindo assim que a única diferença com Si-FMIP é a ausência de CPT.

(A)

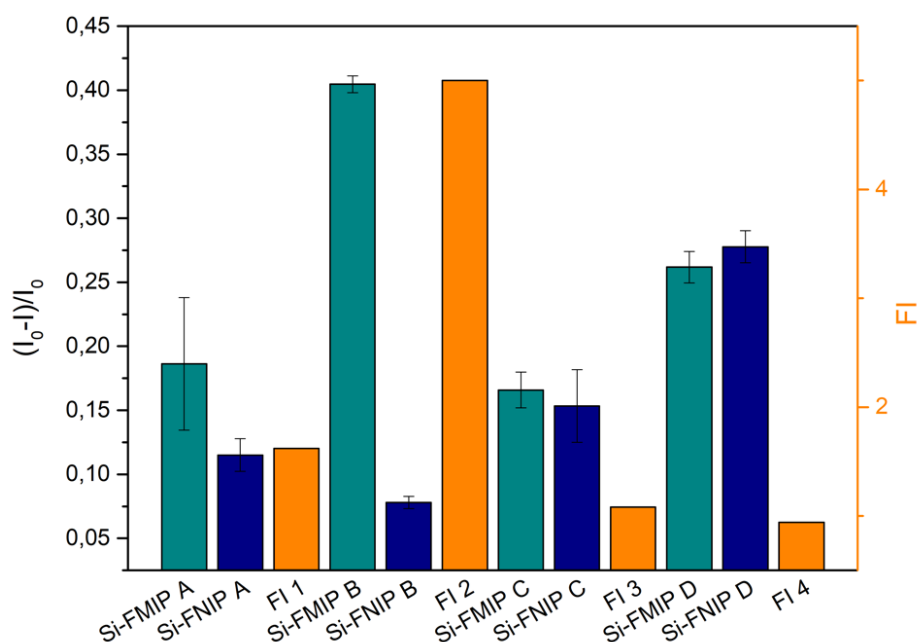


(B)



**Figura 3.4**– (A) Alguns sobrenadantes da etapa de remoção do CPT, começando pela etapa 1 (L1) e finalizando com a etapa 11 (L11). (B) Cromatogramas das etapas de lavagem para remoção do CPT que foram realizadas para Si-FMIP<sub>B</sub>. Condições de HPLC: coluna C18 (250 x 4,6 mm, Shim-Pack CLC-ODS); vazão: 0,8 mL min<sup>-1</sup>, fase móvel: metanol 65%/tampão fosfato 35% (pH 8) injeção: 20 µL; T: 25°C; comprimento de onda: 220 nm. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Após as etapas de preparação dos Si-FMIPs e Si-FNIPs, os materiais foram armazenados em solvente etanol. A partir dessas suspensões estoque os demais experimentos foram realizados. Para avaliar qual síntese apresentou a melhor seletividade ao CPT, foi realizado um teste preliminar de religação. Para isso, 20 µL de cada suspensão estoque (500 mg mL<sup>-1</sup>) foram misturados com 5 mL de CPT na concentração de 25 µM. A detecção do CPT foi obtida pela supressão de fluorescência dos Si-FMIPs, assim, medidas de fluorescência foram realizadas antes e depois do contato com CPT, respectivamente  $I_0$  e  $I$ . Em seguida o valor de  $I_R$  (sinal analítico utilizado) foi calculado conforme a Equação 3.1. Com o valor de  $I_R$  definido, para cada um dos polímeros foi possível definir o FI e com isso estabelecer qual a melhor composição para reconhecimento seletivo de CPT. Os resultados deste experimento estão apresentados na **Figura 3.5**.



**Figura 3.5**– Efeitos de diferentes proporções molares dos reagentes na síntese do Si-FMIPs e Si-FNIPs. A concentração CPT: 25  $\mu\text{M}$ ; concentração dos polímeros: 2  $\text{mg mL}^{-1}$ ; solvente: água/etanol (1/1, v/v); comprimentos de onda de excitação/emissão: 490/520 nm. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

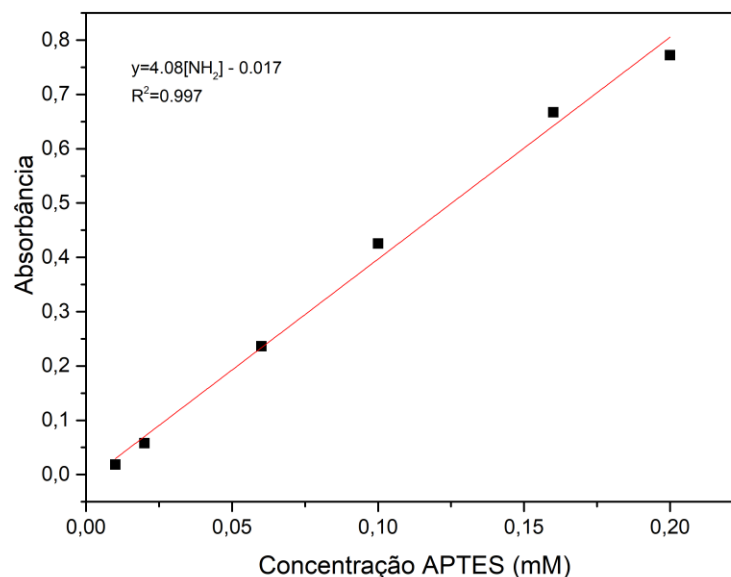
Como observado, o Si-FMIP<sub>B</sub> – preparado na proporção 1:3:10:0,05 para CPT, APTES, TEOS, FITC-APTES – apresentou o melhor valor de FI, ou seja, a intensidade de fluorescência relativa para o Si-FMIP<sub>B</sub> foi maior que a do Si-FNIP<sub>B</sub> correspondente. Esta supressão de fluorescência maior (magnitude do sinal analítico) para o Si-FMIP<sub>B</sub> indica que para essa composição, a interação do MIP com CPT foi maior, indicando que número maior de cavidades seletivas foram formadas. A síntese A, apresentou um valor de FI maior que 1,5, porém o sinal analítico encontrado para o IR foi menor que o valor encontrado na síntese B. A diferença entre ambas é quantidade de FTIC-APTES. Na composição B, a quantidade de monômero fluorescente é menor, assim qualquer efeito relacionado a processo de auto-absorção do fluoróforo foi evitado, não interferindo no sinal analítico obtido. A menor concentração de FITC-APTES na síntese de Si-FMIP<sub>B</sub> proporciona um maior sinal de fluorescência. Quando as outras composições são avaliadas nas sínteses C e D, não é possível observar diferenças entre os sinais analíticos dos pares Si-FMIP<sub>C</sub> e Si-FNIP<sub>C</sub>, Si-FMIP<sub>D</sub> e Si-FNIP<sub>D</sub>. A supressão de fluorescência ocorreu, visto os valores de  $I_R$ , porém não houve seletividade na resposta. Como os valores foram parecidos para Si-FMIP/Si-FNIP, os

Fls foram próximos a 1. Portanto, aumentar a quantidade de APTES e TEOS, respectivamente síntese C e D, não representou um ganho na formação de cavidades seletivas para o CPT.

A seletividade exibida pelo Si-FMIP<sub>B</sub> está relacionada ao número de grupos amino disponíveis para interação com o CPT. O silano APTES foi usado para fornecer grupos amino para polímeros e como catalisador para a reação de polimerização sol-gel (Wang, F. *et al.*, 2021). APTES é responsável pela criação de nanocavidades impressas para reconhecimento molecular da MM (Wang, F. *et al.*, 2020). Interações do tipo ligação de hidrogênio ocorre através da protonação entre o grupo ácido carboxílico no CPT e o grupo amino no APTES (Duan *et al.*, 2011). A quantidade desses grupos presentes no material pode ser estimada pelo teste colorimétrico com ninhidrina, procedimento que foi apresentado no trabalho desenvolvido por Santos *et al.*(2020); (Santos, J. A. O. *et al.*, 2023). Para este experimento, uma curva de calibração foi construída com soluções estoques de APTES (0,01 – 0,2 mM) e a adição de 1 mL de solução etanólica de ninhidrina 5%. Essas misturas foram aquecidas durante 1h a 70°C. Após esse tempo, medidas de absorbância em 578 nm foram realizadas. As soluções utilizadas e a curva de calibração preparada estão apresentadas na **Figura 3.6A-B**.

(A)



**(B)**

**Figura 3.6**– (A) Soluções de APTES-ninhidrina utilizadas para a curva de calibração. (B) Curva de calibração usando teste colorimétrico com ninhidrina. Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

Realizado o teste colorimétrico com ninhidrina foi possível estimar a quantidade de grupos amino por grama de polímeros e os valores encontrados estão apresentados na **Tabela 3.2**. Conforme observado, a quantidade de grupos amino é maior para o Si-FMIP<sub>B</sub>, confirmando a disponibilidade de mais sítios de interação para o CPT. Quando se compara Si-FMIP<sub>B</sub> com Si-FNIP<sub>B</sub>, observa-se uma diferença significativa (6 vezes menor) no número de grupos aminos. Essa diferença na quantidade de sítios de interação ajuda a justificar os resultados encontrados para I<sub>R</sub> (Si-FMIP/Si-FNIP) e conseqüentemente resultam no melhor valor FI. Para os outros polímeros sintetizados a quantidade de grupos aminos identificados nos pares Si-FMIP/Si-FNIP foram próximos, com isso não seria possível obter valores consideráveis para FI.

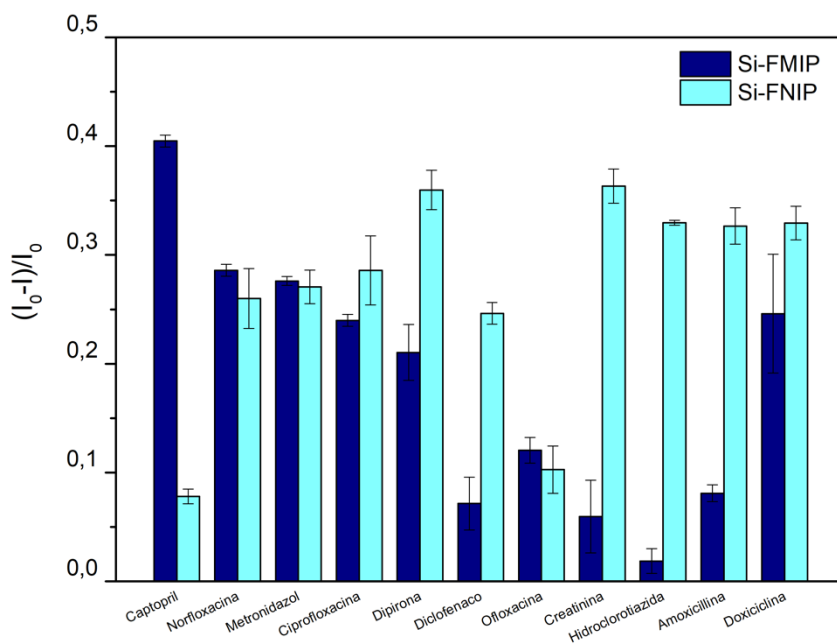
**Tabela 3.2**– Quantificação de grupos amino utilizando teste colorimétrico com ninhidrina

Polímeros	mmol NH <sub>2</sub> g <sup>-1</sup>
Si-FMIP <sub>A</sub>	0,035
Si-FNIP <sub>A</sub>	0,025
Si-FMIP <sub>B</sub>	0,624
Si-FNIP <sub>B</sub>	0,094
Si-FMIP <sub>C</sub>	0,365
Si-FNIP <sub>C</sub>	0,433
Si-FMIP <sub>D</sub>	0,001
Si-FNIP <sub>D</sub>	0,003

**Fonte:** Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

### 3.4.2 Avaliação da seletividade

A capacidade do Si-FMIP de reconhecer seletivamente o CPT foi avaliada comparando o sinal analítico obtido após contato com outras moléculas. Os valores de supressão de fluorescência obtidos para molécula interferente com Si-FMIP e Si-FNIP estão apresentados na **Figura 3.7**. Após o experimento, os fatores de impressão molecular para as moléculas testes ( $FI_{\alpha}$ ) e os coeficientes de seletividade relativa ( $\beta$ ) foram calculados e resumidos na **Tabela 3.3**. Obteve-se um FI de 5,1 para o CPT, superior a todos os valores encontrados para as moléculas avaliadas, demonstrando a alta afinidade do Si-FMIP ao CPT.  $FI_{\alpha}$  próximo a 1, encontrado para norfloxacin, metronidazol, ciprofloxacina e ofloxacina, indica que não houve diferença entre o reconhecimento de Si-FMIP e Si-FNIP. Para as demais moléculas, o  $FI_{\alpha}$  foi inferior a 1, indicando que o reconhecimento do Si-FNIP foi maior que o do Si-FMIP. Para os coeficientes de seletividade relativa, os valores encontrados foram superiores a 4, indicando que o FI-CPT se destacou em relação ao FI para outras moléculas. Portanto, a alta seletividade ao CPT confirma as cavidades seletivas formadas nos Si-FMIP<sub>B</sub>.



**Figura 3.7**– Resposta de fluorescência dos Si-FMIP e Si-FNIP ao CPT e as moléculas teste. A concentração das moléculas: 25  $\mu\text{M}$ ; concentração de polímero: 2  $\text{mg mL}^{-1}$ ; solvente: água/etanol (1/1, v/v); comprimentos de onda de excitação/emissão: 490/520 nm. **Fonte:** Fonte: Elaborado pela Autora (2023).

**Tabela 3.3**– Parâmetros  $FI_\alpha$  e  $\beta$  para avaliação da seletividade de diferentes moléculas aos polímeros impressos Si-FMIP e Si-FNIP.

Moléculas	$FI_\alpha$	$\beta$
Captopril	5,1	-
Norfloxacin	1,1	4,5
Metronidazol	1,0	4,9
Ciprofloxacina	1,2	4,2
Dipirona	0,6	8,5
Diclofenaco	0,3	17,2
Ofloxacin	1,2	4,3
Creatinina	0,2	30,5
Hidroclorotiazida	0,1	88,0
Amoxicilina	0,2	20,2
Doxiciclina	0,7	6,7

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

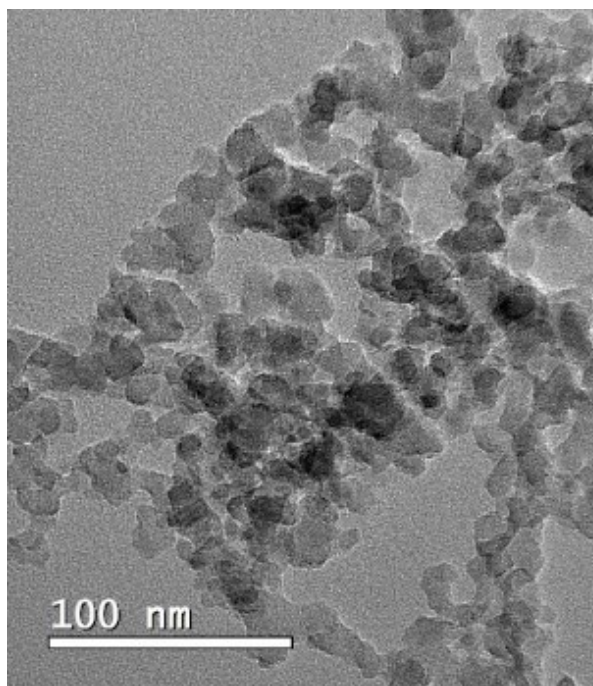


### 3.4.3 Caracterização morfológica e estrutural de Si-FMIP e Si-FNIP

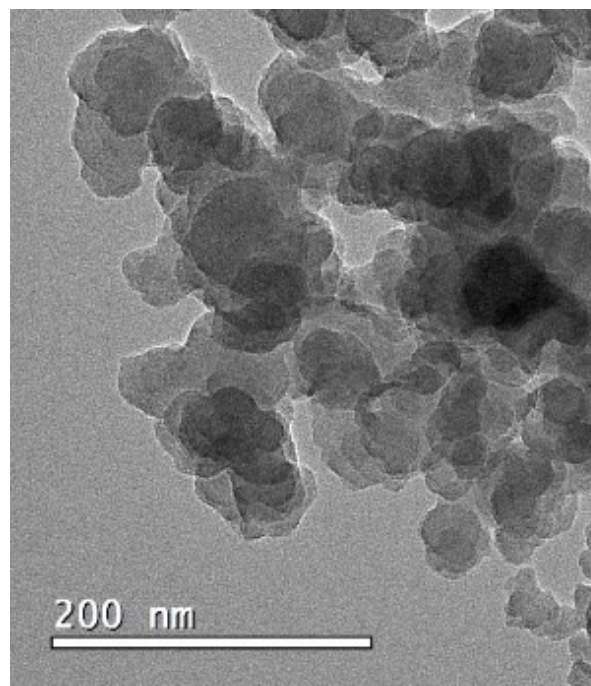
Após a análise de seletividade, os Si-FMIP e Si-FNIP foram submetidos a caracterização, previsão da morfologia (TEM), identificação de grupos funcionais (FTIR), distribuição de cargas (Potencial Zeta).

A microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foi empregada para caracterizar a morfologia do polímero molecularmente impresso fluorescente e seu correspondente polímero não-impresso (Si-FNIP). Como mostrado na **Figura 3.8 A-D**, existe uma diferença considerável entre os dois polímeros, demonstrando que a presença do CPT afetou a polimerização e que a estratégia de impressão pode funcionar (Wang, F. *et al.*, 2021). Nas micrografias, **Figura 3.8-A e 3.8-B**, é possível notar uma agregação de microesferas tanto no Si-FMIP quanto no Si-FNIP, formando consequentemente grânulos poliméricos. É possível ainda indicar que não houve homogeneidade na formação de partículas e distribuição de tamanho em configurações irregulares para ambos os polímeros. A partir das micrografias foi possível definir um tamanho médio para os polímeros sintetizados utilizando o software Image J, os histogramas estão apresentados na **Figura 3.8-C e 3.8-D**.

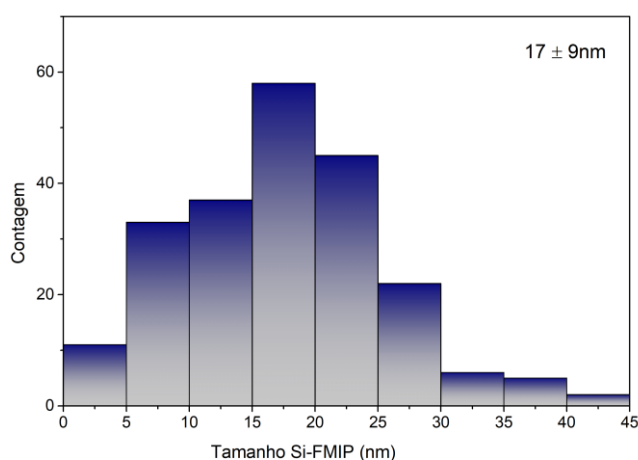
(A)



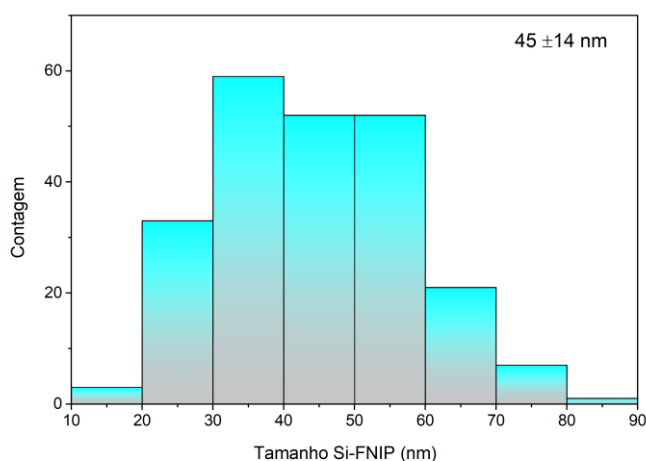
(B)



(C)



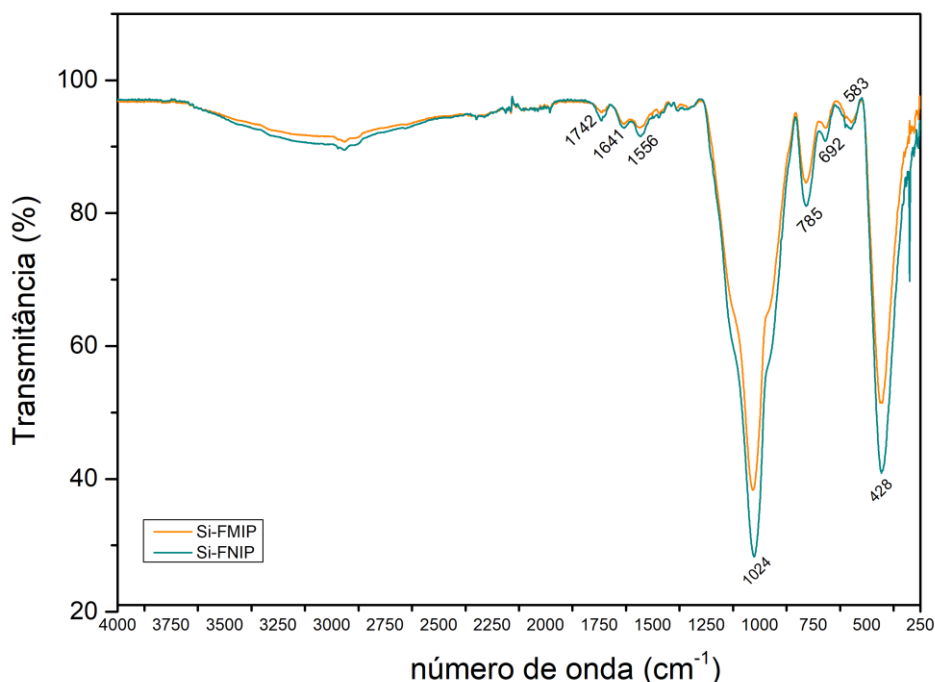
(D)



**Figura 3.8**– Micrografias eletrônicas de transmissão de (A) Si-FMIP (escala 100 nm) e (B) Si-FNIP (escala 200 nm). Histogramas com o tamanho médio dos polímeros fluorescentes (n=225) (C) Si-FMIP e (D) Si-FNIP. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Os principais grupos funcionais presentes no Si-FMIP e Si-NIP foram caracterizados por FT IR, conforme apresentado na **Figura 3.9**. A banda centrada em  $1742\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao alongamento simétrico C–H, que indica os grupos Si-O-CH<sub>3</sub>. As bandas centradas em  $1641\text{ cm}^{-1}$  e  $1556\text{ cm}^{-1}$  são provavelmente atribuídas ao estiramento C=C do Si-Ph e à vibração de deformação do NH<sub>2</sub> apresentadas nas ligações sílica-aminas (Si-NH<sub>2</sub>), respectivamente (Santos *et al.*, 2023). Os picos localizados em  $1024\text{ cm}^{-1}$  e  $785\text{ cm}^{-1}$  correspondem respectivamente à vibração de deformação Si-OH e à vibração de estiramento simétrico N-Si-N apresentada pelos

amino-silanos. As bandas em  $692\text{ cm}^{-1}$  e  $583\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas à vibração de balanço dos grupos  $\text{R-SiH}_3$  e ao estiramento assimétrico da ligação  $\text{Si-C}$  dos grupos silanos  $\text{R}_2\text{SiPh}_2$ , respectivamente (Santos *et al.*, 2020). Finalmente, a banda observada em  $425\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao comum de estiramento de ligações  $\text{Si-Si}$  (Socrates, 2001).



**Figura 3.9**– Espectros FTIR para Si-FMIP e Si-FNIP. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Os polímeros foram submetidos a análise de carga superficial e os resultados estão apresentados na **Tabela 3.4**. O valor do potencial zeta (Pz) representa a carga superficial das partículas, resultante da soma de todas as cargas de diferentes grupos químicos, ionizados ou não, na superfície das nanopartículas. O valor do Pz auxilia na previsão das propriedades do material. As nanopartículas com valores de  $\text{Pz} > -25\text{ mV}$  e  $\text{Pz} < +25\text{ mV}$  são normalmente muito estáveis, enquanto nanopartículas com Pz superior a  $+30\text{ mV}$  ou inferior a  $-30\text{ mV}$  são consideradas fortemente catiônicas/aniônicas, respectivamente (Karaseva *et al.*, 2019); (Dietl *et al.*, 2021). Para as partículas de sílica (Si-NPs), sem polímeros ancorados na superfície, observa-se uma carga negativa devido à desprotonação dos grupos silanol ( $\equiv\text{Si-O-}$ ) (Santos et

al., 2023). A funcionalização com síntese do Si-FMIP e Si-FNIP, o Pz apresenta carga positiva devido provavelmente à protonação dos grupos amino ( $-\text{NH}_2$ ).

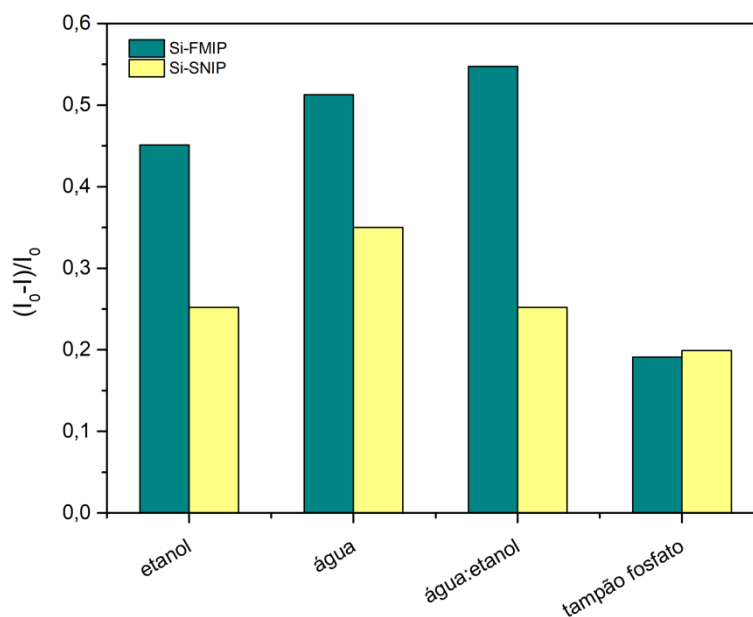
**Tabela 3.4**– Potenciais Zeta para de nanopartículas de sílica pura (Si-NP) e funcionalizadas com polímeros (Si-FMIP/Si-FNIP) em tampão fosfato ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , pH = 7,4) e a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Partículas	Potencial Zeta [mV]
Si-NP	$-30,20 \pm 0,14$
Si-FMIP	$20,07 \pm 0,08$
Si-FNIP	$24,73 \pm 1,17$

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

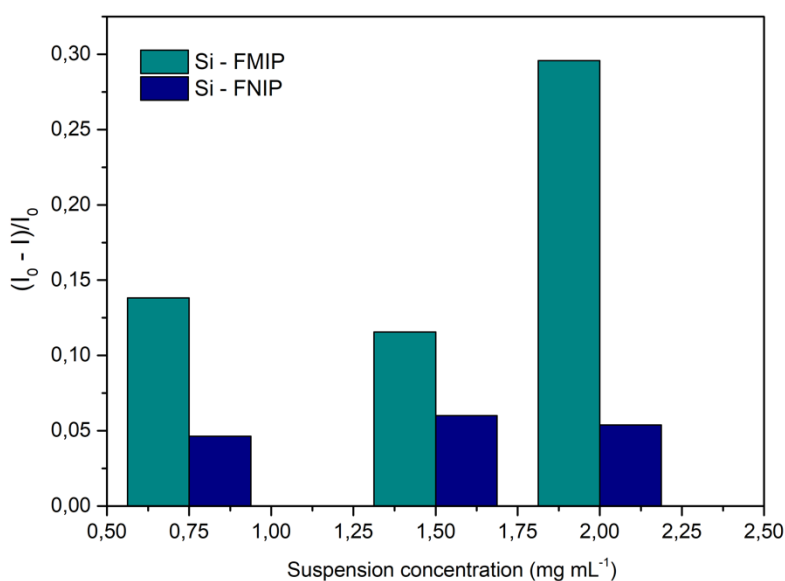
#### 3.4.4 Otimização das condições de religação do CPT

A intensidade de fluorescência das suspensões contendo os Si-MIPs é altamente afetada pelo solvente e pela concentração. Por isso, avaliou-se a supressão da fluorescência após contato com captopril em diferentes solventes.  $20 \text{ } \mu\text{L}$  de uma suspensão de Si-FMIP preparada em cada solvente com concentração de  $500 \text{ mg mL}^{-1}$  foram misturados com  $5 \text{ mL}$  de uma solução de  $25 \text{ } \mu\text{M}$  de CPT. Após 60 minutos, a intensidade de fluorescência foi registrada e a resposta foi calculada de acordo com a equação 3.1. A **Figura 3.10** mostra a supressão de fluorescência para etanol, água, água:etanol (1:1 v/v) e tampão fosfato ( $50 \text{ mM}$ , pH 8,5). Como pode ser observado, o Si-FMIP preparado na mistura etanol-água (1:1 v/v) forneceu o maior sinal analítico. Além disso, a razão entre as respostas Si-FMIP e Si-FNIP (fator de impressão) foi superior quando comparada aos outros solventes. Isto pode ser explicado pela polaridade moderada da mistura, na qual as interações solvente-CPT são inferiores as do Si-FMIP-CPT. Para o tampão fosfato (pH = 8,5), a alta força iônica pode minimizar a interação do CPT com as cavidades seletivas do Si-FMIP.



**Figura 3.10**– Avaliação da religação de CPT em diferentes solventes. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

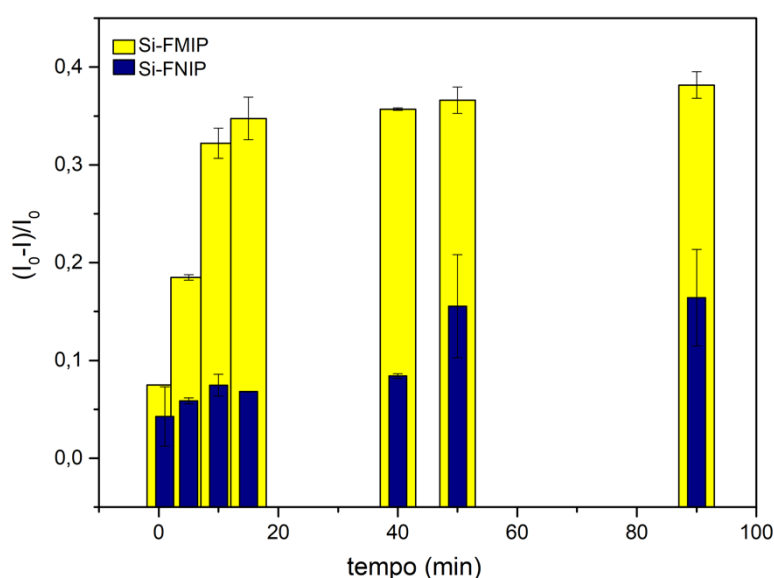
A seguir, foi examinada a influência da concentração da suspensão de Si-FMIP na intensidade do sinal analítico. As misturas foram agitadas por 15 min e medidas de fluorescência foram realizadas antes e depois da agitação com CPT. Os valores de  $I_r$  encontrados para as diferentes concentrações estão apresentados na **Figura 3.11**.



**Figura 3.11**– Avaliação da concentração da suspensão de Si-FMIP/Si-FNIP na religação de CPT. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Conforme observado na figura o maior sinal analítico após o contato com o CPT foi obtido na concentração de  $2 \text{ mg mL}^{-1}$ . Este fato pode ser explicado pelo aumento de cavidades seletivas disponíveis para interação com o CPT.

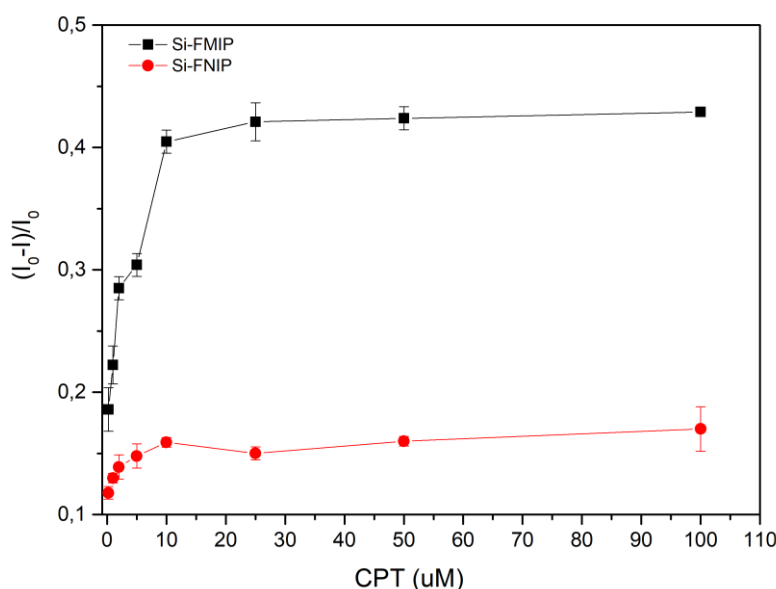
Em seguida, avaliou-se o comportamento do sinal analítico do Si-FMIP e Si-FNIP em função do tempo de contato as medições de fluorescência foram capturadas em diferentes intervalos de tempo variando de 1 a 50 minutos. O experimento foi realizado em triplicata e os resultados encontrado estão apresentados na **Figura 3.12**. Como pode ser visto, o sinal analítico atinge um patamar após 15 minutos de contato, indicando um equilíbrio entre o polímero e o analito, sendo assim definido como o melhor tempo de análise.



**Figura 3.12**– Avaliação do tempo de contato entre Si-FMIP/Si-FNIP e CPT. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

O sinal de fluorescência foi medido em função da concentração de CPT para avaliar a relação entre eles. Para tanto,  $20 \mu\text{L}$  de uma suspensão de Si-FMIP com concentração de  $500 \text{ mg mL}^{-1}$  foram adicionados a  $5 \text{ mL}$  de soluções de CPT nas concentrações de  $0,25$ ,  $1$ ,  $2$ ,  $5$ ,  $10$ ,  $25$ ,  $50$  e  $100 \mu\text{M}$  e agitados por 15 minutos. Os resultados são mostrados na **Figura 3.13**. Conforme observado, o sinal analítico atinge um patamar para concentrações superiores a  $10 \mu\text{M}$ , indicando que os locais de religação para o CPT podem estar saturados. Uma tendência semelhante foi observada para ambos os polímeros, mas em menor grau para os Si-FNIPs, uma vez

que estes polímeros não sofreram a formação de cavidades seletivas como no caso do Si-FMIP.



**Figura 3.13**– Avaliação da performance dos polímeros Si-FMIP/Si-FNIP em diferentes concentrações de CPT. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

### 3.4.5 Parâmetros Analíticos

Minimizar o efeito de matriz em uma amostra é crucial para obter resultados analíticos precisos, especialmente em técnicas sensíveis como a fluorescência. Por isso, as curvas analíticas foram preparadas com as soluções padrão com amostras. Isso ajuda a compensar as diferenças nas características da matriz, melhorando a exatidão dos resultados.

Para amostras de águas residuais, a faixa de trabalho definida foi de 1 a 15  $\mu\text{M}$ , onde foi possível estabelecer uma relação linear adequada com um coeficiente de determinação  $R^2$  superior a 0,99. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram determinados como três e dez vezes o desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração, resultando em valores de 0,7  $\mu\text{M}$  e 2,2  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Para avaliar a repetibilidade intra-dia do método, utilizou-se o desvio padrão relativo (DPR) de 10 réplicas de uma solução de CPT com concentração de 5  $\mu\text{M}$ , submetida ao procedimento proposto. Os resultados revelaram uma concentração de  $4,7 \pm 0,3 \mu\text{M}$ , indicando uma alta precisão com um coeficiente de variação (RSD) de 6,4%. A precisão do método foi avaliada através da determinação

de CPT em amostras de águas residuais fortificadas em três níveis de concentração (1,5, 3,5 e 7,5  $\mu\text{M}$ ). A recuperação foi calculada pela relação entre a concentração na amostra fortificada e a concentração encontrada após a análise. Os resultados obtidos ficaram dentro da faixa de tolerância de 20% para os níveis de concentração avaliados, indicando uma precisão adequada do método proposto. Todos esses parâmetros analíticos estão resumidos de forma detalhada na **Tabela 3.5**, proporcionando uma visão abrangente da validação do método utilizado.

**Tabela 3.5**– Parâmetros analíticos do método Si-FMIP proposto para determinação de CPT nas amostras de águas residuais.

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Faixa linear ( $\mu\text{M}$ )	1 – 15 $\mu\text{M}$
r	0,994
R <sup>2</sup>	0,986
Repetibilidade inter-dias (DPR%, n=10)	6,4%
LOD ( $\mu\text{M}$ )	0,7
LOQ ( $\mu\text{M}$ )	1,5
Recuperação 1 (1,5 $\mu\text{M}$ )	98,5 $\pm$ 2,7%
Recuperação 2 (3,5 $\mu\text{M}$ )	99,9 $\pm$ 4,5%
Recuperação 3 (10 $\mu\text{M}$ )	99,3 $\pm$ 1,4%

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Para amostras de urina sintética foi adotado o mesmo procedimento. A precisão do método foi obtida através da determinação de CPT em amostras de urina sintética enriquecidas com três níveis de concentração (1, 3,5 e 10  $\mu\text{M}$ ). A **Tabela 3.6** resume os parâmetros analíticos obtidos utilizando amostras de urina sintética. Os resultados obtidos para esta amostra também ficaram dentro da faixa de tolerância de 20% para os níveis de concentração avaliados, indicando uma precisão adequada do método proposto (INMETRO, 2010). O método analítico desenvolvido para a avaliação da concentração de CPT em águas residuais e urina sintética demonstrou ser versátil, com boa precisão. Os resultados positivos encontrados na aplicação das duas amostras reforçam a confiabilidade do método e sua aplicabilidade em estudos ambientais e de monitoramento de poluentes.



**Tabela 3.6**– Parâmetros analíticos do método Si-FMIP proposto para determinação de CPT nas amostras de urina sintética.

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Faixa linear ( $\mu\text{M}$ )	0,5 – 15 $\mu\text{M}$
R	0,998
R <sup>2</sup>	0,997
Repetibilidade inter-dias (DPR%, n=10)	7,43%
LOD ( $\mu\text{M}$ )	0,47
LOQ ( $\mu\text{M}$ )	1,63
Recuperação 1 (1,5 $\mu\text{M}$ )	93,71 $\pm$ 1,60%
Recuperação 2 (3,5 $\mu\text{M}$ )	92,90 $\pm$ 2,61%
Recuperação 3 (7,5 $\mu\text{M}$ )	98,00 $\pm$ 3,00%

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

Por fim, o desempenho analítico do sensor Si-FMIP proposto foi comparado com outros métodos para determinação de CPT. A **Tabela 3.7** compara o LOD alcançado e a faixa linear, bem como o método de detecção. O limite de detecção encontrado pelo Si-FMIP é semelhante ou inferior às metodologias comparadas, porém a grande vantagem deste trabalho é determinação direta do analito, ou seja, sem necessidade de técnica de separação.

**Tabela 3.7**– Comparação do desempenho analítico do método Si-FMIP com estudos publicados anteriormente para quantificação de CPT.

Amostra	LOD ( $\mu\text{M}$ )	Faixa de trabalho ( $\mu\text{M}$ )	Detecção	REF.
Águas residuais	0,7	1 - 15	Fluorescência	Este trabalho.
Urina sintética	0,4	0,5 - 15		
Soro humano	9,2	18,4 – 9204	HPLC-ECL	(Sun; Zhang; Zhang, 2013)
Urina	30	60 - 2250	RP-HPLC-UV	(Łuczak; Zakrzewski; Dobrogowski, 2012)
Medicamentos	0,4	1 - 50	Fluorescência	(Wu, Maolin; Lv; Lin, 2022)
	0,5		Colorimetria	

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2023).

### 3.5 Conclusão

A abordagem que emprega nanopartículas de sílica integradas a polímeros fluorescentes de impressão molecular (Si-FMIPs) sintetizados por meio do método *one-pot* de síntese sol-gel revelou-se altamente eficaz na detecção seletiva e sensível do captopril (CPT) em amostras líquidas, especialmente em águas residuais e amostras de urina sintética. O Si-FMIP demonstrou reconhecimento seletivo para CPT, evidenciado pelo elevado fator de impressão molecular de 5,1 e pelos resultados obtidos no estudo de seletividade. O desempenho analítico do Si-FMIP apresentou uma ampla faixa de trabalho, baixo limite de detecção, repetibilidade e precisão satisfatórias. Portanto, o polímero fluorescente fornece um método confiável para monitorar e quantificar o captopril. A combinação de tecnologia de impressão molecular, nanopartículas de sílica e detecção de fluorescência mostra-se eficaz para alcançar seletividade e sensibilidade adequadas.

Os resultados destacaram o potencial dos Si-FMIPs como ferramenta analítica para a determinação seletiva de CPT em amostras ambientais e biológicas. Esta investigação contribui para avançar no monitoramento do impacto ambiental dos resíduos farmacêuticos, promovendo, em última análise, a gestão sustentável destes micropoluentes emergentes nos nossos ecossistemas. Além disso, a simplicidade do processo e a facilidade de implementação em diversas matrizes líquidas destacam a versatilidade dos MIPs. Essas características fazem dos MIPs uma ferramenta analítica valiosa para enfrentar desafios ambientais, alinhando-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). No contexto deste estudo, a aplicação dos Si-FMIPs contribui diretamente para o ODS 6 (Água Potável e Saneamento) ao permitir a monitorização e quantificação precisa de resíduos farmacêuticos em águas residuais, promovendo a gestão sustentável dos recursos hídricos. Além disso, a seletividade e eficiência analítica dos MIPs também se alinham ao ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), destacando seu papel na promoção de práticas analíticas mais eficazes e sustentáveis. Em última análise, o uso estratégico dos MIPs representa um avanço significativo na busca por soluções analíticas ambientalmente conscientes e pode contribuir para a realização dos objetivos globais de sustentabilidade.

## 4 DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSO EM PAPEL UTILIZANDO O MÉTODO *POLYMERIZATION-FREE* PARA APLICAÇÃO COMO FASE SÓLIDA SORTIVA

### 4.1 Introdução

O naproxeno é um medicamento anti-inflamatório não esteroide (AINE) utilizado para aliviar a dor, a inflamação e a febre. Sua ação ocorre inibindo a produção de substâncias chamadas prostaglandinas, que desempenham um papel importante no processo inflamatório (Batlouni, 2010). Este medicamento é frequentemente prescrito para tratar artrite, osteoartrite, artrite reumatoide, dor muscular, dores menstruais e outros tipos de inflamação. Algumas das suas formas mais comuns de comercialização incluem comprimidos e cápsulas, suspensão oral, creme ou gel tópico. Em geral, a dosagem típica para adultos pode variar de 250 mg a 500 mg, tomados duas vezes ao dia. Sua absorção ocorre principalmente no trato gastrointestinal, após a administração oral (Lila *et al.*, 2020). Vale ressaltar que a sua biodisponibilidade varia entre as diferentes formas farmacêuticas.

Quando uma substância não é absorvida no trato gastrointestinal, ela geralmente é eliminada pelo sistema excretor. No caso do naproxeno e seus metabólitos são excretados pela urina em questão de horas após a sua administração. Quando os resíduos de medicamentos são eliminados pelo esgoto doméstico, têm impactos negativos significativos, incluindo toxicidade para organismos, disrupção endócrina, seleção de resistência antimicrobiana, impacto nos ecossistemas e contaminação da cadeia alimentar. Essa poluição pode afetar a saúde dos organismos aquáticos e até mesmo dos seres humanos que consomem alimentos contaminados. Medidas de descarte seguro e tratamento de água são essenciais para mitigar esses problemas (Wojcieszynska; Guzik, 2020); (Ozcan *et al.*, 2022).

Como mencionado na seção 3.1, os produtos farmacêuticos têm sido considerados potenciais poluentes emergentes (PEPs). Com isso, é importante o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis para quantificação de medicamentos em matrizes ambientais. As vantagens dos MIPs para aplicação em problemas analíticos/ambientais já foram mencionadas nos capítulos anteriores. Os MIPs podem ser utilizados de diversas maneiras, a depender do tipo de aplicação pretendida. Uma alternativa bastante interessante é o depósito dos polímeros em

substratos sólidos, para utilização em procedimentos de extração/pré-concentração ou em sensores (Li, W. *et al.*, 2021); (Lamaoui; Karrat; Amine, 2022).

O emprego do papel como sorvente para extração foi apresentado por Hurtubise e colaboradores (2002). Nos trabalhos publicados, os autores detalharam a utilização de papel hidrofóbico comercial para extrair hidrocarbonetos aromáticos policíclicos de amostras de água (Chen, Jie; Hurtubise, 1998). Desde então, o papel tem sido empregado na elaboração de dispositivos analíticos, embora sua utilização em microextração ainda tenha sido pouco explorado. Apesar de o papel comum ter sido aplicado como sorvente, a modificação de sua superfície amplia a diversidade de analitos passíveis de extração (González-Bermúdez *et al.*, 2023). Assim, a modificação do papel com MIPs é uma opção a ser explorada.

#### **4.1.1 MIPs em papel (p-MIP)**

Nos últimos anos, o papel (e.g papel de filtro) tem sido empregado de muitas maneiras em procedimentos analíticos distintos, desde dispositivos microfluídicos até substratos para amostragens gasosas (Petruci; Cardoso, 2016); (Dias; Batista; Petrucij, 2021). A superfície do papel pode ser modificada quimicamente para melhorar a seletividade e a eficiência da extração. A combinação de MIPs e papel tem sido pouco explorada, porém oferece uma série de vantagens tais como custo reduzido quando comparado a outros substratos, portabilidade, integração em sistemas microfluídicos e aplicabilidades em diversos cenários. Ao incorporá-los em papel, é possível utilizá-lo como sensores químicos, que interagem com os analitos e fornecem uma resposta que pode ser medida no próprio substrato (Apyari *et al.*, 2022). Outra possibilidade é a utilização da combinação p-MIP como material para extração e pré-concentração de analitos. Nesse caso, o analito é posteriormente eluído e determinado utilizando uma técnica analítica adequada (Díaz-Liñán *et al.*, 2021a).

O papel é um material que pode ser adquirido em várias formas e tamanhos, é de fácil manuseio e processamento, possui custo reduzido em comparação com outros materiais de laboratório, tornando-o uma opção econômica. Isso é especialmente vantajoso para aplicações em larga escala ou em locais com recursos limitados. O emprego do papel acoplado a técnicas de detecção miniaturizadas permite o desenvolvimento de dispositivos portáteis, que são valiosos em aplicações de campo e em situações em que a mobilidade é essencial. O papel pode ser facilmente integrado para uso como sensores e dispositivos de extração. Os MIPs

ancorados em papel podem ser usados para extrair e pré-concentrar poluentes em amostras de água, ar ou solo, contribuindo para monitoramento ambiental e controle de qualidade (Díaz-Liñán *et al.*, 2021b; Lamaoui; Karrat; Amine, 2022; Li *et al.*, 2021).

O processo de preparo dos polímeros em papel envolve algumas etapas, incluindo a escolha da MM, o tipo de polimerização a ser utilizada e o modo de incorporação do MIP no papel. Geralmente, a primeira etapa é a seleção da MM, em função da aplicação desejada, para criação dos sítios de ligação no polímero. Em seguida, o papel é tratado para permitir interação com o polímero, como por exemplo modificação química da superfície do papel (Huang, K. *et al.*, 2017). Por fim, os monômeros (monômeros funcionais e de reticulação) são adicionados ao papel para início da polimerização por calor, luz ou agentes químicos. Durante esse processo, os monômeros reagem entre si para formar a rede polimérica. Após a síntese, a MM é removida, deixando sítios de ligação tridimensionais no MIP (Amatatongchai *et al.*, 2023); (Huang, T. *et al.*, 2022). É importante destacar que as etapas de preparo podem variar dependendo da abordagem escolhida. As mais utilizadas são: síntese RAFT (do inglês *Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer*) (Kuşçuoğlu *et al.*, 2019) e o método de *polymerization-free* (Díaz-Liñán *et al.*, 2019), sendo esta a abordagem escolhida para execução neste trabalho.

#### **4.1.2 Método *polymerization-free***

O termo *polymerization-free* refere-se a uma abordagem de preparação de MIPs que não envolve o processo tradicional de polimerização. Nos métodos convencionais, a polimerização é uma etapa crucial para a formação do MIP, onde MFs se polimerizam em torno de uma MM criando sítios de ligação para posterior reconhecimento molecular. Neste tipo de abordagem, a preparação dos MIPs ocorre de uma maneira que não envolve diretamente a polimerização. Em vez disso, métodos alternativos são empregados para obter os sítios de interação desejados no polímero. Alguns desses métodos podem incluir a utilização de polímeros já existentes que têm propriedades desejadas e podem se auto-organizar em torno de uma MM (Dmitrienko *et al.*, 2013). O intuito é obter as cavidades seletivas características dos MIPs, sem a necessidade de um processo de polimerização extenso. Isso simplifica o processo de preparação, reduz os custos referentes a reagentes, além de facilitar a aplicação em diferentes substratos (Martín-Esteban, 2016), uma possibilidade por exemplo é o papel (Dayal *et al.*, 2019).

Esta abordagem apresenta diversas vantagens, como simplicidade do processo de preparação do MIP, já que a etapa de polimerização é eliminada, tornando-a mais direta (menos etapas) e acessível. Isso resulta em procedimentos experimentais menos complexos e mais rápidos quando comparados a outros métodos de preparação de MIPs que empregam sínteses com duração de 16h (Madikizela; Chimuka, 2016), por exemplo. Em alguns casos, pode preservar melhor as propriedades funcionais dos monômeros e grupos ativos, resultando em MIPs com características de ligação melhores, além disso, gera menos resíduos químicos. Isso é benéfico do ponto de vista ambiental e prático. Na **Tabela 4.1** são apresentados alguns trabalhos que combinam MIPs e o método *polymerization-free*.

**Tabela 4.1**– Emprego do método *polymerization-free* no preparo de MIPs

MM	Resina	Solvente	REF.
Quinina	Náilon-6	Ácido Fórmico/ Dimetilformamida	(Díaz-Liñán <i>et al.</i> , 2019)
Metanfetamina /Cocaína	Náilon-6	Ácido Fórmico/ Dimetilformamida	(Díaz-Liñán <i>et al.</i> , 2020)
Metil <i>Paration</i>	fluoreto de polivinilideno- PVDF	Dimetilformamida	(Lin <i>et al.</i> , 2018)
Biomoléculas	Náilon-6	2,2,2-Trifluoroetano	(Dmitrienko <i>et al.</i> , 2013)

Fonte: Elaborado pela autora (2024)

## 4.2 Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo geral empregar o método *polymerization-free* para desenvolvimento de p-MIP para extração de naproxeno em amostras de águas residuais.

### 4.2.1 Objetivos específicos

- i. Explorar a preparação de p-MIP;
- ii. Sintetizar e caracterizar o p-MIP;
- iii. Avaliar diferentes resinas no preparo de p-MIP;
- iv. Aplicar dispositivos p-MIP para extração de NPX;

### 4.3 Materiais e métodos

#### 4.3.1 Reagentes e soluções

Todos os produtos químicos, padrões e solventes utilizados foram de grau analítico, e todas as soluções foram preparadas com água ultrapura ( $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) do sistema de purificação Milli-Q (Millipore Corp., Madrid, Espanha).

Para a preparação dos polímeros foram utilizados: naproxeno (99%, NPX) como molécula molde; náilon-6 (99%), álcool polivinílico (99%, PVA) e fluoreto de polivinilideno (99%, PVDF), ácido fórmico (99%), todos adquiridos da Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha). Metanol e acetonitrila com pureza UHPLC foram adquiridos da PanReac AppliChem (Barcelona, Espanha). Dimetilformamida (99,5%, DMF) e dimetilsulfóxido (99,5%, DMSO) foram adquiridos da PanReac AppliChem (Barcelona, Espanha).

Os papéis de filtro empregados como substrato para os MIPs foram da marca Filter-Lab (42x52 cm, densidade:  $73 \text{ g m}^{-2}$ ).

#### 4.3.2 Instrumentação

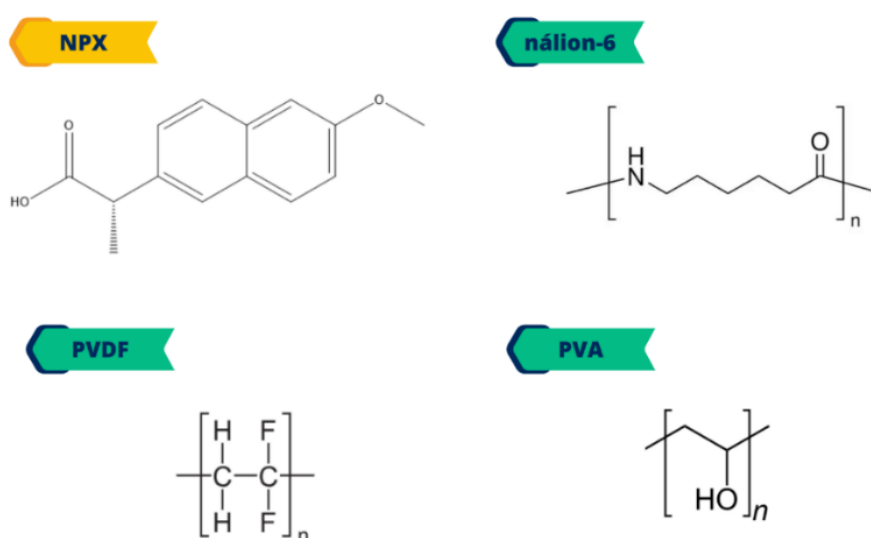
Os dispositivos preparados foram lavados com metanol em um agitador orbital da marca Heidolph, modelo Vibramax 110. Quando necessário, o ajuste de pH das amostras e das soluções de trabalho foi realizado com o pHmetro digital da marca HANNA e soluções de NaOH e HCl, ambas  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ .

As análises cromatográficas para quantificação de NPX foram realizadas utilizando um equipamento Agilent (Palo Alto, CA) acoplado a um detector UV (série HP1100) (HPLC-UV) com medidas de absorvância em comprimento de onda  $260 \text{ nm}$ , um amostrador automático e uma bomba binária. O sistema é equipado com uma coluna LiChrosorb C18 ( $4,6 \times 250 \text{ mm}$ ) e utilizou-se o software HP Chem-Station para o processamento dos cromatogramas. A fase móvel consistia em (A) solução aquosa de ácido acético 3% e (B) acetonitrila, misturadas na proporção 48:52. O volume de injeção foi de  $20 \text{ }\mu\text{L}$ . As análises foram conduzidas em condições de separação isocrática, vazão foi mantida constante em  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$  e com um tempo de análise de 15 minutos por amostra.

Todos os equipamentos utilizados pertencem ao grupo de pesquisa *Affordable and Sustainable Sample Preparation (AS<sub>2</sub>P)*, da Universidade de Córdoba.

### 4.3.3 Síntese e preparação dos polímeros (p-MIP/p-NIP)

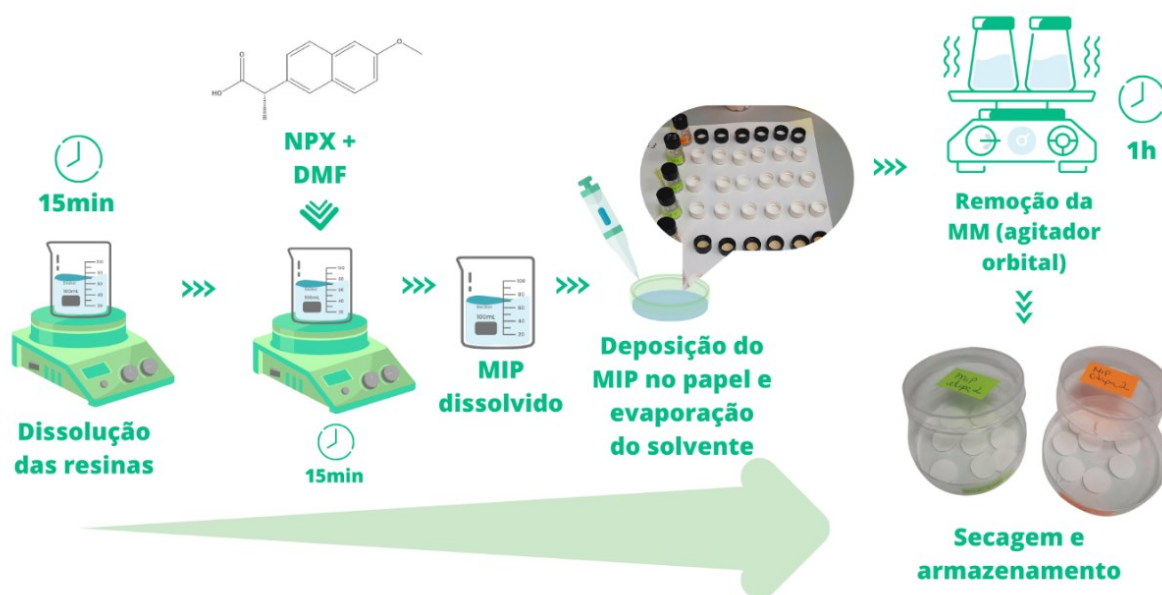
Os MIPs foram preparados utilizando o método *polymerization-free*, uma adaptação do procedimento realizado por Díaz-Liñán *et al.* (2019). Foram investigados MIPs preparados a partir do PVDF, PVA, náilon 6 combinados aos solventes DMF e DMSO. As estruturas químicas dos reagentes estão apresentadas na **Figura 4.1**.



**Figura 4.1**– Estruturas dos reagentes envolvidos no preparo dos MIPs. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2024).

Os MIPs foram preparados por meio de um procedimento simples, conforme resumido na Figura 4.2. Inicialmente, os pellets das resinas foram dissolvidos em um solvente adequado (ácido fórmico, DMF ou DMSO) sob agitação vigorosa. Em seguida, o NPX (MM) em DMF (solvente porogênico) foi adicionado à solução e agitado por 15 minutos para mistura de todos os componentes. Posteriormente, 15 µL da mistura foram adicionados ao papel de filtro em formato circular (1,26 cm de diâmetro), previamente cortado. Essa etapa foi repetida três vezes, permitindo que os dispositivos secassem entre as adições. Os p-MIP obtidos foram mergulhados em 5 mL de metanol e mantidos sob agitação por 15 minutos. Em seguida, o metanol foi trocado e a agitação continuou por mais 30 minutos. Por fim, o p-MIP foi mergulhado em 5 mL de água deionizada e mantido sob agitação por 15 minutos. Os sobrenadantes dessas etapas foram injetados no HPLC para verificar a remoção do NPX. Após essa etapa, os p-MIP foram secos na capela do laboratório e armazenados em um frasco fechado. A preparação do p-NIP foi realizada seguindo o mesmo procedimento descrito, exceto pela adição da MM.





**Figura 4.2**– Fluxograma do preparo dos polímeros p-MIP/ p-NIP. **Fonte:** Elaborado pela Autora (2024).

#### 4.3.4 Avaliação do desempenho dos p-MIPs obtidos

Para avaliar a performance dos dispositivos preparados, verificou-se a eficiência de religação do NPX com os polímeros. Após a preparação dos p-MIPs/p-NIPs, eles foram agitados com 5 mL de uma solução com concentração de 1 mg L<sup>-1</sup> de NPX por 15 minutos. Em seguida, foram lavados com água deionizada para remover os excessos de solvente. Os mesmos dispositivos foram então submetidos à etapa de eluição. Para isso, mergulhou-se em 0,5 mL de metanol, seguido por 0,5 mL de uma mistura de metanol:amônia (99:1 v/v) e foram agitados por 10 minutos. A quantificação de NPX residual foi determinada usando o método cromatográfico por HPLC, conforme descrito anteriormente.

Verificada a concentração de NPX remanescente da extração, foi possível determinar a porcentagem de adsorção de cada um dos polímeros, utilizando a Equação 4.1 (Madikizela; Chimuka, 2016):

$$\% \text{ Adsorção} = \frac{[C_o] - [C_e]}{[C_o]} * 100 \quad (4.1)$$

Onde: C<sub>o</sub> = concentração inicial de NPX (mg L<sup>-1</sup>); C<sub>e</sub> = concentração de NPX no equilíbrio (mg L<sup>-1</sup>);

## 4.4 Resultados e discussões

### 4.4.1 Preparação dos p-MIP/p-NIP

A preparação dos polímeros ocorreu via *polymerization-free*, ou seja, não foi necessário realizar uma síntese. Neste método, utilizou-se apenas a solubilização de resinas comerciais, seguida da mistura com o NPX, estabelecendo assim interações que podem resultar na formação de cavidades seletivas. Como ponto de partida para a preparação desses dispositivos, diversas composições dos reagentes foram avaliadas. Vale ressaltar que a escolha das resinas deste trabalho, considerou o caráter hidrofóbico delas, pois os dispositivos em papel serão empregados para extração de NPX em meio aquoso. Os valores empregados para cada um dos componentes são apresentados na **Tabela 4.2**.

Na primeira tentativa, as resinas utilizadas foram o PVDF com o PVA. O objetivo dessa combinação era proporcionar mais pontos de interação para o NPX. Para preparar as misturas, 46,6 mg de PVDF foram solubilizados em 1 mL de DMF, obtendo-se assim uma solução estoque de 46 g L<sup>-1</sup>. Em seguida, foi preparada uma solução estoque de PVA solubilizando 10 mg em 10 mL de DMF, obtendo-se a concentração final de 1000 mg L<sup>-1</sup>. A mistura com o NPX ocorreu a partir dessas soluções estoques. Após a completa mistura dos reagentes por 15 minutos, alíquotas de 15 µL foram transferidas para o papel (diâmetro de 1,26 cm), comportando três adições consecutivas. Os p-MIPs e p-NIPs preparados com essas composições foram lavados com metanol e água para remoção da MM. Após a injeção dos sobrenadantes no HPLC, foi possível verificar que o NPX foi completamente removido dos dispositivos. Em seguida, foram secos em capela e prontos para serem aplicados.

**Tabela 4.2**– Quantidade de reagentes utilizados na primeira preparação de p-MIP e p-NIP. Solvente utilizado DMF (continua).

Polímero	NPX (mg mL <sup>-1</sup> )	PVDF (mg mL <sup>-1</sup> )	PVA (mg mL <sup>-1</sup> )
p-MIP <sub>A</sub>	10	8	0
p-NIP <sub>A</sub>	0	8	0
p-MIP <sub>B</sub>	10	8	0,5
p-NIP <sub>B</sub>	0	8	0,5

**Tabela 4.2**– Quantidade de reagentes utilizados na primeira preparação de p-MIP e p-NIP. Solvente utilizado DMF (conclusão).

Polímero	NPX (mg mL <sup>-1</sup> )	PVDF (mg mL <sup>-1</sup> )	PVA (mg mL <sup>-1</sup> )
p-MIP <sub>C</sub>	20	8	0
p-NIP <sub>C</sub>	0	8	0
p-MIP <sub>D</sub>	40	8	0,5
p-NIP <sub>D</sub>	0	8	0,5

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2024).

Os p-MIPs e p-NIPs preparados com as composições de A-D não adsorveram o analito quando avaliados em concentração de 1 e 5 mg L<sup>-1</sup>, com tempos de contato de 15 e 30 minutos, e soluções preparadas em pH 2 e 6. Mesmo variando as condições experimentais, não se verificou a adsorção de NPX por nenhum dos p-MIPs. Novas composições foram avaliadas, utilizando DMF e DMSO como solventes os valores utilizados estão apresentados na **Tabela 4.3**.

**Tabela 4.3**– Quantidade de reagentes utilizados na segunda preparação.

Polímero	NPX (mg mL <sup>-1</sup> )	PVDF (mg mL <sup>-1</sup> )	PVA (mg mL <sup>-1</sup> )	Solvente
p-MIP <sub>E</sub>	2	1	1	DMF
p-NIP <sub>E</sub>	0	1	1	DMF
p-MIP <sub>F</sub>	4	1	1	DMF
p-NIP <sub>F</sub>	0	1	1	DMF
p-MIP <sub>G</sub>	8	1	1	DMF
p-NIP <sub>G</sub>	0	1	1	DMF
p-MIP <sub>H</sub>	2	1	1	DMSO
p-NIP <sub>H</sub>	0	1	1	DMSO
p-MIP <sub>I</sub>	4	1	1	DMSO
p-NIP <sub>I</sub>	0	1	1	DMSO
p-MIP <sub>J</sub>	8	1	1	DMSO
p-NIP <sub>J</sub>	0	1	1	DMSO

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2024).

As concentrações dos reagentes foram aumentadas para que uma quantidade maior da mistura fosse adicionada ao papel, buscando melhorar a incorporação dos polímeros no papel. Os p-MIPs e p-NIPs sintetizados com novas condições foram submetidos ao procedimento de extração com NPX nas mesmas condições descritas anteriormente. Não foi verificada adsorção dos analitos, de maneira similar as condições anteriores. Foi determinado o percentual em massa de cada reagente em cada uma das composições avaliadas e os resultados estão apresentados na **Tabela 4.4**. Como observado na tabela, os percentuais em massa testadas foram menores que 1% para os reagentes, o que pode ser uma justificativa para os resultados encontrados. Além disso, os monômeros destas duas resinas são estruturas pequenas, conferindo um peso molecular baixo para o polímero e poucos pontos de interação com o NPX.

**Tabela 4.4**– Composições das misturas preparadas de p-MIP e p-NIP expressa em porcentagem (continua).

Polímero	Solvente	NPX % m/v	PVDF % m/v	PVA % m/v
p-MIP <sub>A</sub>	DMF	0,2	0,8	0
p-NIP <sub>A</sub>	DMF	0	0,8	0
p-MIP <sub>B</sub>	DMF	0,2	0,8	0,05
p-NIP <sub>B</sub>	DMF	0	0,8	0,05
p-MIP <sub>C</sub>	DMF	0,4	0,8	0,05
p-NIP <sub>C</sub>	DMF	0	0,8	0,05
p-MIP <sub>D</sub>	DMF	0,8	0,8	0,05
p-NIP <sub>D</sub>	DMF	0	0,8	0,05
p-MIP <sub>E</sub>	DMF	0,2	0,1	0,1
p-NIP <sub>E</sub>	DMF	0	0,1	0,1
p-MIP <sub>F</sub>	DMF	0,4	0,1	0,1
p-NIP <sub>F</sub>	DMF	0	0,1	0,1
p-MIP <sub>G</sub>	DMF	0,8	0,1	0,1
p-NIP <sub>G</sub>	DMF	0	0,1	0,1

**Tabela 4.4**– Composições das misturas preparadas de p-MIP e p-NIP expressa em porcentagem (conclusão).

Polímero	Solvente	NPX % m/v	PVDF % m/v	PVA % m/v
p-MIP <sub>H</sub>	DMSO	0,2	0,1	0,1
p-NIP <sub>H</sub>	DMSO	0	0,1	0,1
p-MIP <sub>I</sub>	DMSO	0,4	0,1	0,1
p-NIP <sub>I</sub>	DMSO	0	0,1	0,1
p-MIP <sub>J</sub>	DMSO	0,8	0,1	0,1
p-NIP <sub>J</sub>	DMSO	0	0,1	0,1

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2024).

Uma alternativa para o preparo dos p-MIPs e p-NIPs foi a utilização do náilon-6 como resina, pois seu uso já fora previamente demonstrado com outros analitos (Díaz-Liñán *et al.*, 2020). Neste caso, um planejamento do tipo Box-Behnken foi aplicado, considerando a composição percentual dos reagentes. As composições utilizadas e o percentual de extração estão apresentados na **Tabela 4.5**. Como pode ser observado na tabela, os preparos com maior presença percentual de náilon (3, 5, 6 e 11) apresentaram maior eficiência de extração de NPX pelos p-MIP quando comparado com outras composições. Entretanto, os valores de percentual de extração ainda são considerados baixos (~2,5%). Destaca-se que as porcentagens obtidas para os p-NIPs foram menores em todas as condições. Portanto, o potencial da utilização do náilon-6 na síntese dos MIPs em papel pode ser explorado com potencial uso na extração de NPX em soluções aquosas.

**Tabela 4.5**– Planejamento Box- Behnken para as composições de p-MIP e p-NIP expressa em porcentagem. Onde %ext = porcentagem de extração (continua).

Polímeros	NPX	Náilon-6	DMF	p-MIP	p-NIP
	% m/v	% m/v	% m/v	%ext	%ext
<b>1</b>	0,1	1	4	0,08	0,30
<b>2</b>	0,55	1	0	0,23	0,00
<b>3</b>	0,55	10	8	2,28	0,83
<b>4</b>	1	1	4	0,00	0,30
<b>5</b>	0,55	5,5	4	2,43	0,76
<b>6</b>	0,1	10	4	2,73	0,00
<b>7</b>	0,55	1	8	0,30	0,38

**Tabela 4.5**– Planejamento Box- Behnken para as composições de p-MIP e p-NIP expressa em porcentagem. Onde %ext = porcentagem de extração (conclusão).

Polímeros	NPX	Náilon-6	DMF	p-MIP	p-NIP
	% m/v	% m/v	% m/v	%ext	%ext
<b>8</b>	0,1	5,5	0	0,61	0,38
<b>9</b>	0,1	5,5	8	0,99	0,00
<b>10</b>	1	10	4	0,53	0,00
<b>11</b>	0,55	5,5	4	2,73	1,37
<b>12</b>	1	5,5	0	0,00	0,38
<b>13</b>	0,55	5,5	4	1,67	0,76
<b>14</b>	0,55	10	0	0,30	0,83
<b>15</b>	1	5,5	8	1,74	0,00

**Fonte:** Elaborado pela Autora (2024).

#### 4.5 Perspectivas

A utilização do método *polymerization-free* para preparo dos p-MIPs oferece uma perspectiva promissora para aplicação como método de extração. A simplicidade e sustentabilidade inerentes a esse método abrem caminho para aplicações práticas em diversas áreas, especialmente no monitoramento ambiental. A rapidez do método contribui para a facilidade do preparo, enquanto a potencial integração com outras tecnologias amplia as possibilidades de aplicações práticas.

Algumas composições foram testadas para o preparo dos p-MIPs, porém sem sucesso na extração eficiente de naproxeno. Por isso, é necessário maior investigação das condições do preparo do material. O teste inicial com náilon-6 indicou que interações com o analito ocorreram, porém é necessário a avaliação de outras combinações dos reagentes, da composição do papel e das condições de extração. Não foi possível a continuidade dos experimentos, pois este trabalho foi desenvolvido durante o estágio na Universidade de Córdoba.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em síntese, os resultados obtidos nos trabalhos com os polímeros molecularmente impressos comprovam seu potencial para diversas aplicações analíticas. O uso do MIP-ACR combinado com o dispositivo DPX para extração e pré-concentração de escopolamina em amostras de urina sintética não apenas melhorou a detectabilidade da determinação de SCP por Eletroforese Capilar, mas também contribuiu para um método mais sustentável, reduzindo o consumo de reagentes e minimizando a geração de resíduos.

A integração de nanopartículas de sílica com polímeros fluorescentes de impressão molecular na síntese dos Si-FMIPs apresentou-se como uma abordagem seletiva e sensível para a detecção de captopril em amostras líquidas. Os Si-FMIPs demonstraram reconhecimento seletivo do captopril, com performance analítica satisfatória, incluindo ampla faixa de trabalho, baixo limite de detecção e repetibilidade adequada.

Os p-MIPs elaborados pelo método *polymerization-free* não apresentaram boa extração do naproxeno. No entanto, as investigações realizadas sugerem que essa metodologia simplificada, ainda pouco explorada, tem potencial para a formação de cavidades seletivas com concentrações maiores dos reagentes. Assim, são necessários mais estudos deste procedimento de preparação, pois a combinação de MIPs em papel propiciará métodos analíticos mais acessíveis e eficientes para a detecção e monitoramento de diversos analitos.

As vantagens inerentes aos MIPs, como alta seletividade e a possibilidade de adequação para reconhecimento molecular, tornam esses materiais uma interessante alternativa para aplicações analíticas sustentáveis. Alinhando-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), o uso estratégico dos MIPs contribui diretamente para metas como possibilitar a monitorização eficiente de resíduos farmacêuticos em águas residuais e promover práticas analíticas mais sustentáveis.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-MEGIED, A. M. *et al.* LC-MS/MS bioanalytical method for the quantitative analysis of nifedipine, bisoprolol, and captopril in human plasma: Application to pharmacokinetic studies. **Biomedical Chromatography**, v. 37, n. 9, p. 1-14, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/bmc.5664>.

ABRAHAM, M. J. *et al.* Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, v. 1-2, p. 19-25, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>.

AHUJA, S.; JIMIDAR, M. I. Overview of capillary electrophoresis in pharmaceutical analysis. **Separation Science and Technology: Capillary electrophoresis methods for pharmaceutical analysis**, v. 9, p. 145-169, jan. 2008. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0149-6395\(07\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0149-6395(07)00002-5).

ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E. Studies in molecular dynamics. I. General method. **The Journal of Chemical Physics**, v. 31, n. 2, p. 459-466, 1959. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.1730376>.

ALVES, L.T.O. *et al.* Síntese e caracterização de MIP com fenilalanina visando sua aplicação na técnica de SPE. **Polimeros**, v. 25, n. 6, p. 596-605, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-1428.2116>

AMATATONGCHAI, M. *et al.* Origami 3D-microfluidic paper-based analytical device for detecting carbaryl using mesoporous silica-platinum nanoparticles with a molecularly imprinted polymer shell. **Talanta**, v. 254, n. December 2022, p. 124202, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.124202>.

ANSARI, S.; KARIMI, M. Novel developments and trends of analytical methods for drug analysis in biological and environmental samples by molecularly imprinted polymers. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 89, p. 146-162, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.02.002>.

APYARI, V. V. *et al.* A Three-Reagent "Green" Paper-Based Analytical Device for Solid-Phase Spectrometric and Colorimetric Determination of Dihydroquercetin. **Sensors**, v. 22, n. 8, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/s22082893>.

ASHUTOSH TIWARI; LOKMAN UZUN (Org.). *Advanced Molecularly imprinted Materials*. 2017. ed. New Jersey: Scrivener Publishing LLC Wiley, [2017]. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119336181>.

BATISTA, A. D.; SILVA, W. R.; MIZAIKOFF, B. Molecularly imprinted materials for biomedical sensing. **Medical Devices & Sensors**, v. 4, n. 1, p. 1-17, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/mds3.10166>.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 556-563, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2010000400019>.



BELBRUNO, J. J. Molecularly Imprinted Polymers. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 1, p. 94-119, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00171>.

BISTA, S. R. *et al.* Development, validation and application of an HPLC-MS/MS method for the determination of fentanyl and nor-fentanyl in human plasma and saliva. **Journal of Chromatography B**, v. 960, p. 27-33, jun. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.04.019>

BITAR, M. *et al.* Binding characteristics of molecularly imprinted polymers based on fungicides in hydroalcoholic media. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 20, p. 3607-3614, out. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201500543>.

BIZZOTTO, C. S. *et al.* Comparison of capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography methods for caffeine determination in decaffeinated coffee. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 186-191, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013005000013>.

BOONE, C. M. *et al.* Capillary electrophoresis as a versatile tool for the bioanalysis of drugs-a review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 20, n. 6, p. 831-863, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(99\)00088-6](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(99)00088-6).

BORDIN, D. C M. *et al.* A Rapid Assay for the Simultaneous Determination of Nicotine, Cocaine and Metabolites in Meconium Using Disposable Pipette Extraction and Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC - MS). **J Anal Toxicol.**, p. 31-38, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/jat/bkt092>.

BORDIN, D. C. M.; ALVES, M. N. R.; CAMPOS, E. G.; MARTINIS, B. S. Disposable pipette tips extraction: Fundamentals, applications, and state of the art. **Journal of Separation Science**. 2016, 39, 1168–1172. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201500932>.

BORGES, K. B.; DE FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. 1a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BOYSEN, R. I. Advances in the development of molecularly imprinted polymers for the separation and analysis of proteins with liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 42, n. 1, p. 51-71, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201800945>.

BROOKS, T.; KEEVIL, C. W. A simple artificial urine for the growth of urinary pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 24, n. 3, p. 203-206, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1997.00378.x>.

BROWN, K. *et al.* Electrochemiluminescent sensors as a screening strategy for psychoactive substances within biological matrices. **Analyst**, v. 145, n. 12, p. 4295-4304, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0AN00846J>.

CARASEK, E.; MORÉS, L.; HUELSMANN, R. D. Disposable pipette extraction: A critical review of concepts, applications, and directions. **Analytica Chimica Acta**, v. 1192, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339383>.

CHEN, J.; HURTUBISE, R. J. Solid-phase microextraction with Whatman 1PS paper and direct room-temperature solid-matrix luminescence analysis. **Talanta**, v. 45, n. 6, p. 1081-1087, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(97\)00214-2](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(97)00214-2).

CHEN, L. *et al.* Molecular imprinting: Perspectives and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 8, p. 2137-2211, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6CS00061D>.

CHERKAOUI, S. *et al.* Development and validation of a capillary zone electrophoresis method for the determination of atropine, homatropine and scopolamine in ophthalmic solutions. **Journal of Chromatography B: Biomedical Applications**, v. 696, n. 2, p. 283-290, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(97\)00255-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(97)00255-7).

CORALLO, C. E.; WHITFIELD, A.; WU, A. Anticholinergic syndrome following an unintentional overdose of scopolamine. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, p. 719, set. 2009. DOI: <https://doi.org/10.2147/TCRM.S6732>.

CORMACK, P. A.G.; ELORZA, A. Z. Molecularly imprinted polymers: Synthesis and characterization. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 804, n. 1, p. 173-182, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.02.013>.

COWEN, T.; KARIM, K.; PILETSKY, S. Computational approaches in the design of synthetic receptors - A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 936, p. 62-74, set. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.07.027>.

CUNHA, M. R. *et al.* Removal of captopril pharmaceutical from synthetic pharmaceutical-industry wastewaters: Use of activated carbon derived from *Butia catarinensis*. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 6, p. 104506, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104506>.

CUNHA, R. R. *et al.* Fast determination of codeine, orphenadrine, promethazine, scopolamine, tramadol, and paracetamol in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis. **Journal of Separation Science**, v. 40, n. 8, p. 1815-1823, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201601275>.

DAYAL, H. *et al.* Development of a hydrophilic molecularly imprinted polymer for the detection of hydrophilic targets using quartz crystal microbalance. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 300, n. May, p. 127044, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127044>.

DELLA, F. N. W. et al. Heat-based procedure for detectability enhancement of colorimetric paper-based spot tests. **Microchemical Journal**, v. 177, n. January, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107320>.

DIAS, B. C.; BATISTA, A. D.; PETRUCI, J. F. S..  $\mu$ OPTO: A microfluidic paper-based optoelectronic tongue as presumptive tests for the discrimination of alkaloid drugs for forensic purposes. **Analytica Chimica Acta**, v. 1187, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339141>.

DÍAZ-LIÑÁN, M. C. et al. Dual-template molecularly imprinted paper for the determination of drugs of abuse in saliva samples by direct infusion mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 160, n. October 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105686>.

DÍAZ-LIÑÁN, M. C. et al. Molecularly imprinted paper-based analytical device obtained by a polymerization-free synthesis. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 287, n. February, p. 138-146, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.048>.

DIETL, S. et al. Core-Shell Imprinted Particles for Adenovirus Binding. **Materials**, p. 1-11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14247692>.

DMITRIENKO, E. V. et al. A simple approach to prepare molecularly imprinted polymers from nylon-6. **Journal of Molecular Recognition**, v. 26, n. 8, p. 368-375, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmr.2281>.

DODDA, L. S. et al. LigParGen web server: an automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. W1, p. W331-W336, 3 jul. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx312>.

DONG, W. et al. A computational and experimental investigation of the interaction between the template molecule and the functional monomer used in the molecularly imprinted polymer. **Analytica Chimica Acta**, v. 542, n. 2, p. 186-192, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.03.032>.

DOURADO, C. S. et al. Synthesis and evaluation of hybrid molecularly imprinted polymers for selective extraction of saccharin in aqueous medium. **Journal of Polymer Research**, v. 28, n. 2, p. 1-15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10965-020-02402-z>.

DUAN, Z. J. et al. Novel surface molecularly imprinted sol-gel polymer applied to the online solid phase extraction of methyl-3-quinoxaline-2-carboxylic acid and quinoxaline-2-carboxylic acid from pork muscle. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, n. 7, p. 2291-2299, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5329-0>.

EL-ATTUG, M. N.; ADAMS, E.; VAN SCHEPDAEL, A. Development and validation of a capillary electrophoresis method with capacitively coupled contactless

conductivity detection (CE-C4D) for the analysis of amikacin and its related substances. **Electrophoresis**, v. 33, n. 17, p. 2777-2782, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/elps.201100688>.

EL-GINDY, A. *et al.* Stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of captopril, indapamide, and their related compounds. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 37, n. 5, p. 696-712, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1080/10826076.2012.758138>.

ENSAFI, A. A. *et al.* Highly sensitive voltammetric sensor based on catechol-derivative-multiwall carbon nanotubes for the catalytic determination of captopril in patient human urine samples. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 87, n. 2, p. 480-488, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.06.013>.

ERK, N.; ONUR, F. Spectrophotometric simultaneous determination of analgin and hyoscine n-butyl bromide in sugar-coated tablets. **Analytical Letters**, v. 29, n. 3, p. 369-380, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1080/00032719608000404>.

ESKANDARI, H.; SHARIATI, M. R. Dodecylbenzene sulfonate-coated magnetite nanoparticles as a new adsorbent for solid phase extraction-spectrophotometric determination of ultra trace amounts of ammonium in water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 704, n. 1-2, p. 146-153, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.005>.

FERNANDES, R. S.; DINC, M.; RAIMUNDO JR, I. M.; *et al.* Molecularly imprinted core-shell hybrid microspheres for the selective extraction of vanillin. **Analytical Methods**, v. 9, n. 19, p. 2883-2889, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7AY00461C>.

FERREIRA, J. B. *et al.* Molecularly imprinted polymers as a selective sorbent for forensic applications in biological samples-a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 413, n. 24, p. 6013-6036, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03596-x>.

FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C. B.; ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: Uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacéuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 3, p. 361-375, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000300005>.

FOGUEL, M. V. *et al.* Synthesis and evaluation of a molecularly imprinted polymer for selective adsorption and quantification of Acid Green 16 textile dye in water samples. **Talanta**, v. 170, n. January, p. 244-251, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.04.013>.

FONSECA, M. C.; NASCIMENTO, C. S.; BORGES, K. B. Theoretical investigation on functional monomer and solvent selection for molecular imprinting of tramadol.

**Chemical Physics Letters**, v. 645, p. 174-179, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2015.12.061>.

FONSECA, M. C. *et al.* Computational contribution to the electrophoretic enantiomer separation mechanism and migration order using modified  $\beta$ -cyclodextrins.

**Electrophoresis**. [S.l: s.n.], 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/elps.201770111>.

FORTESCHI, M. *et al.* Simultaneous determination of citrulline and arginine in human blood plasma by capillary electrophoresis with ultraviolet absorption detection. **Journal of Separation Science**, v. 37, n. 17, p. 2418-2423, set. 2014. DOI:

<https://doi.org/10.1002/jssc.201400177>.

FRANCISCO, K. J. M.; LAGO, C. L.. A compact and high-resolution version of a capacitively coupled contactless conductivity detector. **Electrophoresis**, v. 30, n. 19, p. 3458-3464, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/elps.200900080>.

FRESCO-CALA, B.; BATISTA, A. D.; CÁRDENAS, S.. Molecularly imprinted polymer micro- And nano-particles: a review. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 1-22, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25204740>.

FRITZ, J. S. Analytical solid-phase extraction. Wiley - VCH, 1999.

FU, Y. *et al.* A Fluorescent Self-Absorption Method for Detection of Captopril using Carbon Quantum Dots. **Chemistry Select**, v. 7, n. 15, 2022. DOI:

<https://doi.org/10.1002/slct.202200518>.

FUMES, B. H. *et al.* Recent advances and future trends in new materials for sample preparation. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**. [S.l: s.n.], set. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.011>.

GADZIKOWSKA, M. *et al.* Two-dimensional planar chromatography of tropane alkaloids from *Datura innoxia* Mill. **Journal of Planar Chromatography - Modern TLC**, v. 18, n. 2, p. 127-131, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1556/JPC.18.2005.2.7>.

GAO, Y.; TIAN, Y.; WANG, E. Simultaneous determination of two active ingredients in *Flos daturae* by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta*, v. 545, n. 2, p. 137-141, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.04.071>.

GENG, Y. *et al.* A fluorescent molecularly imprinted polymer using aptamer as a functional monomer for sensing of kanamycin. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 268, p. 47-54, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.04.065>.

GIUDICELLI, J. F. *et al.* Influence of chronic renal failure on captopril pharmacokinetics and clinical and biological effects in hypertensive patients. **British**

**Journal of Clinical Pharmacology**, v. 18, n. 5, p. 749-758, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1984.tb02538.x>.

GONZÁLEZ-BERMÚDEZ, M. *et al.* Paper-based sorptive phases for a sustainable sample preparation. **Advances in Sample Preparation**, v. 5, n. January, p. 100051, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sampre.2023.100051>.

GUPTA, N.; SHAH, K.; SINGH, M. An epitope-imprinted piezoelectric diagnostic tool for *Neisseria meningitidis* detection. **Journal of Molecular Recognition**, v. 29, n. 12, p. 572-579, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmr.2557>.

HAN, L. *et al.* Quantitative detection of captopril in urine by smartphone-assisted ratiometric fluorescence sensing platform. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 280, n. June, p. 121562, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121562>.

HE, H. *et al.* Imprinting of protein over silica nanoparticles via surface graft copolymerization using low monomer concentration. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 2, p. 760-765, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.06.043>.

HE, X. *et al.* Fluoro-functionalized paper-based solid-phase extraction for analysis of perfluorinated compounds by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1601, p. 79-85, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.06.019>.

HU, C.; CHOU, T. Albumin molecularly imprinted polymer with high template affinity - Prepared by systematic optimization in mixed organic/aqueous media. **Microchemical Journal**, v. 91, n. 1, p. 53-58, jan. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2008.07.005>.

HU, T. *et al.* Recent advances and applications of molecularly imprinted polymers in solid-phase extraction for real sample analysis. **Journal of Separation Science**, v. 44, n. 1, p. 274-309, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.202000832>.

HU, Y. *et al.* One-pot synthesis of a fluorescent molecularly imprinted nanosensor for highly selective detection of sulfapyridine in water. *Analytical Methods*, v. 10, n. 8, p. 884-890, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7AY02872E>.

HUA, Y.; AHMADI, Y.; KIM, K. H. Molecularly imprinted polymers for sensing gaseous volatile organic compounds: opportunities and challenges. **Environmental Pollution**, v. 311, n. June, p. 119931, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119931>.

HUANG, K. *et al.* Integrated ion imprinted polymers-paper composites for selective and sensitive detection of Cd(II) ions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 333, p. 137-143, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.03.035>.

HUANG, T. *et al.* PVDF-based molecularly imprinted ratiometric fluorescent test paper with improved visualization effect for catechol monitoring. **Microchemical Journal**, v. 178, n. December 2021, p. 107369, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107369>.

HUANG, Y. *et al.* One-Pot Strategy as a Green and Rapid Method to Fabricate Magnetic Molecularly Imprinted Nanoparticles for Selective Capture of Sulfonylurea Herbicides. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 13, n. 31, p. 37280-37288, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.1c11433>.

İLKTAÇ, R. A Fluorimetric Method Based on Magnetic Molecularly Imprinted Polymer for Selective Detection of Chlorferon. **Journal of Fluorescence**, p. 369-379, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10895-021-02857-3>.

INMETRO-Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. DOQ-CGCRE-008. [S.I.], p. 20. 2010

JAYASINGHE, G. D. T. M.; MOREDA-PIÑEIRO, A. Molecularly Imprinted Polymers for Dispersive (Micro) Solid Phase Extraction: A Review. **Separations**, 2021, 8(7), 99. DOI: <https://doi.org/10.3390/separations8070099>.

JIANG, X.; LIU, Z. Uniformly-sized, molecularly imprinted polymers for naproxen by precipitation polymerization. **Advanced Materials Research**, v. 399-401, p. 713-717, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.399-401.713>.

JORGENSEN, W. L.; MAXWELL, D. S.; TIRADO-RIVES, J. Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 45, p. 11225-11236, jan. 1996. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja9621760>.

KARAKOSTA, T. D.; TZANAVARAS, P. D.; ZACHARIS, C. K. Development and validation of an automated zone fluidics-based sensor for in vitro dissolution studies of captopril using total error concept. **Molecules**, v. 26, n. 4, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26040824>.

KARASEVA, N. A. *et al.* Synthesis and application of molecularly imprinted polymers for trypsin piezoelectric sensors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 280, n. October 2018, p. 272-279, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.10.022>.

KRYSCIO, D. R.; PEPPAS, N. A. Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 2, p. 461-473, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.11.005>.

KUŞÇUOĞLU, C. K. *et al.* A smartphone-based colorimetric PET sensor platform with molecular recognition via thermally initiated RAFT-mediated graft

copolymerization. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 296, n. February 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126653>.

LAI, J. P. *et al.* Molecularly imprinted microspheres and nanospheres for di(2-ethylhexyl) phthalate prepared by precipitation polymerization. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, n. 2, p. 405-412, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1321-0>.

LAMAOU, A.; KARRAT, A.; AMINE, A. Molecularly imprinted polymer integrated into paper-based analytical device for smartphone-based detection: Application for sulfamethoxazole. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 368, n. May, p. 132122, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132122>.

LE GARFF, E. *et al.* Forensic features of a fatal Datura poisoning case during a robbery. **Forensic Science International**, v. 261, p. e17-e21, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.02.028>.

LI, Q. *et al.* Synthesis of highly selective molecularly imprinted nanoparticles by a solid-phase imprinting strategy for fluorescence turn-on recognition of phospholipid. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 368, n. April, p. 1-8, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132193>.

LI, W. *et al.* Molecularly imprinted polymer-enhanced biomimetic paper-based analytical devices: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1148, p. 238196, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.12.071>.

LIN, X. H. *et al.* Selective and sensitive sensors based on molecularly imprinted poly(vinylidene fluoride) for determination of pesticides and chemical threat agent simulants. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 258, p. 228-237, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.11.070>.

LIU, B.; ZHANG, S. G.; CHANG, C. C. Emerging pollutants-Part II: Treatment. **Water Environment Research**, v. 92, n. 10, p. 1603-1617, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/wer.1407>.

LIU, R.; KO, C. C.. Molecularly Imprinted Polymer-Based Luminescent Chemosensors. **Biosensors**, v. 13, n. 2, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios13020295>.

LIU, X.; LI, Y.; SONG, Z.. Determination of captopril in biofluids by luminol-chloroauric acid-lysozyme chemiluminescence. **Instrumentation Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 197-213, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/10739149.2014.979494>.

LIU, Y. *et al.* RAFT-mediated microemulsion polymerization to synthesize a novel high-performance graphene oxide-based cadmium imprinted polymer. **Chemical Engineering Journal**, v. 302, p. 609-618, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.05.097>.



LOBATO, A.; PEREIRA, E. A.; GONÇALVES, L. M. Combining capillary electromigration with molecular imprinting techniques towards an optimal separation and determination. *Talanta*, v. 221, n. August 2020, p. 121546, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121546>.

LOGOYDA, L. *et al.* Method development for the quantitative determination of captopril from Caco-2 cell monolayers by using LC-MS/MS. *Pharmacia*, v. 68, n. 1, p. 61-67, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e52077>.

LOURENÇO, L. P. *et al.* Quantitative determination of lercanidipine enantiomers in commercial formulations by capillary electrophoresis. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, v. 2015, p. 1-9, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/294270>.

LOWDON, J. W. *et al.* MIPs for commercial application in low-cost sensors and assays - An overview of the current status quo. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, v. 325, n. August, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128973>.

ŁUCZAK, A.; ZAKRZEWSKI, R.; DOBROGOWSKI, M. RP-HPLC-UV method coupled with post-column iodine-azide reaction for determination of free captopril in urine samples. *Bioanalysis*, v. 4, n. 12, p. 1481-1489, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4155/bio.12.113>.

MA, X. *et al.* Preparation and characterization of dummy molecularly imprinted polymers for separation and determination of farrerol from *Rhododendron aganniphum* using HPLC. *Green Chemistry Letters and Reviews*, v. 11, n. 4, p. 513-522, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1541481>.

MADIKIZELA, L. M. *et al.* Application of molecularly imprinted polymer designed for the selective extraction of ketoprofen from wastewater. *Water SA*, v. 44, n. 3, p. 406-418, 2018. DOI: <https://doi.org/10.4314/wsa.v44i3.08>.

MADIKIZELA, L. M.; CHIMUKA, L. Synthesis, adsorption and selectivity studies of a polymer imprinted with naproxen, ibuprofen and diclofenac. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 4, n. 4, p. 4029-4037, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.09.012>.

MALIK, M. I. *et al.* Recent Applications of Molecularly Imprinted Polymers in Analytical Chemistry. *Separation and Purification Reviews*, v. 48, n. 3, p. 179-219, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/15422119.2018.1457541>.

MAOUCHE, N. *et al.* A surface acoustic wave sensor functionalized with a polypyrrole molecularly imprinted polymer for selective dopamine detection. *Journal of Molecular Recognition*, v. 28, n. 11, p. 667-678, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmr.2482>.

MARTÍN-ESTEBAN, A. Molecularly imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 45, n. 1, p. 169-181, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.023>.

MARTÍN-ESTEBAN, A. Molecularly imprinted polymers: New molecular recognition materials for selective solid-phase extraction of organic compounds. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 370, n. 7, p. 795-802, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002160100854>.

MARTÍN-ESTEBAN, A. Green molecularly imprinted polymers for sustainable sample preparation. **Journal of Separation Science**, v. 45, n. 1, p. 233-245, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.202100581>.

MARTÍNEZ, L. *et al.* PACKMOL: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 13, p. 2157-2164, out. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.21224>.

MARTINEZ, S. T.; ALMEIDA, M. R. Alucinógenos Naturais: Um Voo Da Europa Medieval Ao Brasil. **Quím. Nova**, v. 32, n. 9, p. 2501-2507, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000900047>.

MARTINS, R. O. *et al.* Molecularly imprinted polymer as solid phase extraction phase for condensed tannin determination from Brazilian natural sources. **Journal of Chromatography A**, v. 1620, p. 460977, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.460977>.

MIN, J. Y. *et al.* Production of tropane alkaloids by small-scale bubble column bioreactor cultures of *Scopolia parviflora* adventitious roots. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 9, p. 1748-1753, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.033>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais Rename 2022 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de. [S.l.: s.n.], 2022. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/dezembro/17/170407M2018final.pdf>>.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170091>.

MORANO, S. C. *et al.* Planilha De Validação: Uma Nova Ferramenta Para Estimar Figuras De Mérito Na Validação De Métodos Analíticos Univariados. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000100029>.

MORTARI, B. *et al.* A spot test for direct quantification of acid green 16 adsorbed on a molecularly imprinted polymer through diffuse reflectance measurements.

**Analytical Methods**, v. 13, n. 4, p. 453-461, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0AY02069A>.

MULDER, H. A; HALQUIST, M. S. Growing Trends in the Efficient and Selective Extraction of Compounds in Complex Matrices Using Molecularly Imprinted Polymers and Their Relevance to Toxicological Analysis. **J Anal Toxicol**, p. 312-321, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/jat/bkaa079>.

NAMBA, A. M.; DA SILVA, V. B.; DA SILVA, C. H.T.P. Dinâmica molecular: Teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Ecletica Quimica**, v. 33, n. 4, p. 13-24, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-46702008000400002>.

NERI, T. S *et al.* Highly sensitive procedure for determination of Cu ( II ) by GF AAS using single-drop microextraction. **Microchemical Journal**, v. 147, n. October 2018, p. 894-898, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.014>.

NICHOLLS, I. A. *et al.* Theoretical and computational strategies for rational molecularly imprinted polymer design. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 25, n. 3, p. 543-552, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2009.03.038>.

NISHCHAYA, K.; RAI, V. K.; BANSODE, H. Methacrylic acid as a potential monomer for molecular imprinting: A review of recent advances. **Results in Materials**, v. 18, n. December 2022, p. 100379, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2023.100379>.

O'MAHONY, J. *et al.* Design and implementation of an imprinted material for the extraction of the endocrine disruptor bisphenol A from milk. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 931, p. 164-169, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.05.025>.

ODAKA, C.; MIZUOCHI, T. Angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril prevents activation-induced apoptosis by interfering with T cell activation signals. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 121, n. 3, p. 515-522, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2000.01323.x>.

OLIVEIRA, M. A. L. *et al.* 20 Years of Fatty Acid Analysis By Capillary Electrophoresis. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 14094-14113, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules190914094>.

ORBAY, S. *et al.* Molecularly Imprinted Polymer-Coated Inorganic Nanoparticles: Fabrication and Biomedical Applications. **Micromachines**, v. 13, n. 9, p. 1-23, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/mi13091464>.

ORONA-NÁVAR, C. *et al.* Adsorptive removal of emerging pollutants from groundwater by using modified titanate nanotubes. **Journal of Environmental**

**Chemical Engineering**, v. 6, n. 4, p. 5332-5340, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.08.010>.

OZCAN, N. *et al.* Removal of naproxen from wastewater using chitosan-aerogel-activated carbon biocomposites: Theory, equilibrium, kinetics, thermodynamics, and process optimization. **Water Environment Research**, v. 94, n. 3, p. 1-16, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/wer.10699>.

PEREIRA, F. M. V.; PEREIRA-FILHO, E. R. Application of free computational program in experimental design: A tutorial. **Química Nova**, v. 41, n. 9, p. 1061-1071, 2018. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170254>.

PETRUCI, J. F. S.; CARDOSO, A. A. Portable and Disposable Paper-Based Fluorescent Sensor for in Situ Gaseous Hydrogen Sulfide Determination in Near Real-Time. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 23, p. 11714-11719, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b03325>

POGÁNY, P.; RAZALI, M.; SZEKELY, G. Experimental and theoretical investigation of the complexation of methacrylic acid and diisopropyl urea. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 170, p. 69-76, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.07.005>

REZAEI, Mohammad *et al.* Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1-2, p. 1-9, maio 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007>.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. A; MELO, L. F. C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods- Revisão. **Quím. Nova** v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>

RIBEIRO, M. M. A. C. *et al.* A sub-minute electrophoretic method for simultaneous determination of naphazoline and zinc. **Journal of Chromatography A**, v. 1472, p. 134-137, nov. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.10.031>.

RIBEIRO, M. M.A.C. *et al.* Simultaneous determination of scopolamine and butylscopolamine in pharmaceutical and beverage samples by capillary zone electrophoresis. **Microchemical Journal**, v. 172, n. November 2021, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106985>.

RISSATO, S. R. *et al.* Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey: Determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1048, n. 2, p. 153-159, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(04\)01213-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(04)01213-0).

SÁIZ, J. *et al.* Rapid determination of scopolamine in evidence of recreational and predatory use. **Science and Justice**, v. 53, n. 4, p. 409-414, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2013.08.001>.

SALGADO, R. *et al.* Analysis of 65 pharmaceuticals and personal care products in 5 wastewater treatment plants in Portugal using a simplified analytical methodology. **Water Science and Technology**, v. 62, n. 12, p. 2862-2871, 2010. DOI: <https://doi.org/10.2166/wst.2010.985>.

SANTOS, J. A.O. *et al.* Red-emitting hybrid based on Eu<sup>3+</sup>-dbm complex anchored on silica nanoparticles surface by carboxylic acid for biomarker application. **Materials**, v. 13, n. 23, p. 1-17, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma13235494>.

SANTOS, J. A. O. *et al.* Development of red-luminescent hybrids as contrast agents for cell imaging: A correlation among surface, luminescence, and biological properties. **Optical Materials**, v. 139, n. February 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2023.113759>

SANTOS, M. G. *et al.* Emprego de polímeros de impressão molecular em preparo de amostras para análise de compostos orgânicos: aplicações e tendências. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 3, p. 161-195, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4322/sc.2012.012>.

SARAFRAZ-YAZDI, A.; RAZAVI, N. Application of molecularly imprinted polymers in solid-phase microextraction techniques. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 73, p. 81-90, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.05.004>.

SELLERGREN, B. Noncovalent molecular imprinting: Antibody-like molecular recognition in polymeric network materials. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 310-320, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(97\)00027-7](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(97)00027-7).

SHORAVI, S. *et al.* On the Influence of Crosslinker on Template Complexation in Molecularly Imprinted Polymers: A Computational Study of Prepolymerization Mixture Events with Correlations to Template-Polymer Recognition Behavior and NMR Spectroscopic Studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 6, p. 10622-10634, 12 jun. 2014. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms150610622>.

SILVA, J. F.; DO LAGO, C. L. An oscillometric detector for capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 20, p. 4339-4343, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac980185g>.

SILVA, W. R. *et al.* Development of a Disposable Pipette Extraction Method Using Coffee Silverskin as an Adsorbent for Chromium Determination in Wastewater Samples by Solid Phase Extraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, p. 1-10, 2022a. DOI: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210171>.

SILVA, W. R. *et al.* The use of in silico models for the rationalization of molecularly imprinted polymer synthesis. **European Polymer Journal**, v. 166, n. January 2022b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111024>.

SILVA, W. R. et al. A Molecularly Imprinted Polymer-Disposable Pipette Tip Extraction-Capillary Electrophoresis (MISPE-DPX-CE) Method for the Preconcentration and Determination of Scopolamine in Synthetic Urine Samples. **Chemosensors**, v. 10, n. 10, 2022c. DOI: <https://doi.org/10.3390/chemosensors10100387>.

SILVA, A. T. M. et al. Efficient molecularly imprinted polymer as a pipette-tip solid-phase sorbent for determination of carvedilol enantiomers in human urine. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1061-1062, n. May, p. 399-410, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.07.056>.

SINGH, A. K.; SINGH, M. Designing L-serine targeted molecularly imprinted polymer via theoretical investigation. **Journal of Theoretical and Computational Chemistry**, v. 15, n. 05, p. 1650041, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1142/S0219633616500413>.

SIRUMAPEA, L. et al. Selective solid-phase extraction of meropenem from human blood plasma using a molecularly imprinted polymer. **Indonesian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 5, p. 1167-1179, 2021. DOI: <https://doi.org/10.22146/ijc.64025>.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo - SP, 2006.

SOCRATES, G. Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts. [S.l: s.n.], 2001. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jrs.1238>>.

SOLDIN, S. J. et al. The measurement of free thyroxine by isotope dilution tandem mass spectrometry. **Clínica Chimica Acta**, v. 358, n. 1-2, p. 113-118, ago. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2005.02.010>.

SOTÉ, W. O. Avaliação De Representações Oligoméricas Para A Modelagem In Silico De Polímeros Molecularmente Impressos Utilizando Molde De Origem Biológica. 2022. Dissertação de Mestrado. 1-73 f. 2022.

SOTOMAYOR, M. D. P. T.; DIAS, I. L. T.; LANZA, M. R. V.; MOREIRA, A. B.; KUBOTA, L. T. Application, and advances in the luminescence spectroscopy in pharmaceutical analyses - Revisão. **Quím. Nova**, v. 31, n. 7, p. 1755-1774, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700031>.

SPIVAK, D. A. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 12, p. 1779-1794, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.012>.

SPUDEIT, D. A.; DOLZAN, M. D.; MICKE, G. A.. Conceitos básicos em eletroforese capilar. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 4, p. 287-297, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4322/sc.2012.017>.

SUN, Y.; ZHANG, Z.; ZHANG, X. Determination of captopril by high-performance liquid chromatography with direct electrogenerated chemiluminescence.

**Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 105, p. 171-175, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.11.109>.

SUZAEI, F. M. *et al.* Recent molecularly imprinted polymers applications in bioanalysis. [S.l.]: **Versita**, 2023. v. 77. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11696-022-02488-3>.

TABANDEH, M. *et al.* Computational design and synthesis of molecular imprinted polymers for selective extraction of allopurinol from human plasma. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 898, p. 24-31, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.04.009>.

TAGLIARO, F. *et al.* Determination of thyroxine in the hair of newborns by radioimmunoassay with high-performance liquid chromatographic confirmation. **Journal of Chromatography B: Biomedical Applications**, v. 716, n. 1-2, p. 77-82, set. 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(98\)00196-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(98)00196-0).

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. **Quimica Nova**, v. 28, n. 6, p. 1076-1086, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000600024>

TAMAYO, F G; TURIEL, E; MARTÍN-ESTEBAN, A. Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and solid-phase microextraction: Recent developments and future trends. **Journal of Chromatography A**, v. 1152, p. 32-40, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.08.095>.

THEODORIDIS, G. *et al.* Preparation of a molecularly imprinted polymer for the solid-phase extraction of scopolamine with hyoscyamine as a dummy template molecule. **Journal of Chromatography A**, v. 987, n. 1-2, p. 103-109, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)02048-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)02048-4).

TOMASIN, G. S. *et al.* Highly sensitive determination of Cu(II) ions in hemodialysis water by F AAS after disposable pipette extraction (DPX) using *Moringa oleifera* as solid phase. **Microchemical Journal**, v. 161, n. August 2020, p. 105749, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105749>.

TOMINAGA, Y. *et al.* Development of molecularly imprinted porous polymers for selective adsorption of gaseous compounds. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 156, p. 161-165, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2012.02.020>.

TURIEL, E.; MARTÍN-ESTEBAN, A. Molecularly imprinted polymers-based microextraction techniques. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 574-586, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.016>.

TURIEL, E.; MARTÍN-ESTEBAN, A. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 668, n. 2, p. 87-99, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.019>

VANECKOVA, T. *et al.* Application of molecularly imprinted polymers as artificial receptors for imaging. **Acta Biomaterialia**, v. 101, p. 444-458, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.11.007>.

VÁZQUEZ, P. P.; MUGHARI, A. R.; GALERA, M. M. Solid-phase microextraction (SPME) for the determination of pyrethroids in cucumber and watermelon using liquid chromatography combined with post-column photochemically induced fluorimetry derivatization and fluorescence detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 607, n. 1, p. 74-82, jan. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.027>.

VOGEL, A. Análise Química Quantitativa. 6ª Ed. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, Rio de Janeiro, 2002.

WANG, F. *et al.* A simple approach to prepare fluorescent molecularly imprinted nanoparticles. **RSC Advances**, v. 11, n. 13, p. 7732-7737, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0RA10618F>.

WANG, F. *et al.* Dual roles of 3-aminopropyltriethoxysilane in preparing molecularly imprinted silica particles for specific recognition of target molecules. **RSC Advances**, v. 10, n. 34, p. 20368-20373, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0RA01684E>.

WANG, J. *et al.* Molecularly Imprinted Fluorescent Test Strip for Direct, Rapid, and Visual Dopamine Detection in Tiny Amount of Biofluid. **Small**, v. 15, n. 1, p. 1-9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/sml.201970006>.

WANG, J. *et al.* Co-precipitation method to prepare molecularly imprinted fluorescent polymer nanoparticles for paracetamol sensing. **Colloids and Surfaces A**, v. 587, n. December 2019, p. 124342, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.124342>.

WANG, P. *et al.* Fluorescent, magnetic dual-responsive molecularly imprinted polymers for the selective detection of moxidectin in animal samples. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 14, n. 4, p. 755-762, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13738-016-1017-5>.

WANG, Y. *et al.* A novel microfluidic origami photoelectrochemical sensor based on CdTe quantum dots modified molecularly imprinted polymer and its highly selective detection of S-fenvalerate. **Electrochimica Acta**, v. 107, p. 147-154, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.05.154>.



WANG, Y. *et al.* The Recent Advances of Fluorescent Sensors Based on Molecularly Imprinted Fluorescent Nanoparticles for Pharmaceutical Analysis. **Current Medical Science**, v. 40, n. 3, p. 407-421, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11596-020-2195-z>.

WANG, Y. *et al.* Synthesis of molecularly imprinted dye-silica nanocomposites with high selectivity and sensitivity: Fluorescent imprinted sensor for rapid and efficient detection of  $\tau$ -fluvastatin in vodka. **Journal of Separation Science**, v. 41, n. 8, p. 1880-1887, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201701142>.

WOJCIESZYŃSKA, D.; GUZIK, U. Naproxen in the environment: its occurrence, toxicity to nontarget organisms and biodegradation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 5, p. 1849-1857, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10343-x>.

WONG, A. *et al.* Development Of An Electrochemical Sensor Modified With Mwcnt-CooH And Mip For Detection Of Diuron. **Electrochimica Acta**, v. 182, p. 122-130, nov. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.09.054>.

WONG, A.; LANZA, M. R.V.; SOTOMAYOR, M.D.P.T. Development and Application of a Highly Selective Biomimetic Sensor for Detection of Captopril, an Important Ally in Hypertension Control. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 13, n. 8, p. 666-674, 2010. DOI: <https://doi.org/10.2174/138620710791920392>.

WU, C. *et al.* Fluorescent molecularly imprinted nanoparticles for selective and rapid detection of ciprofloxacin in aquaculture water. **Journal of Separation Science**, v. 41, n. 19, p. 3782-3790, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201800418>.

WU, M.; LV, Y.; LIN, Z.. Dual-mode colorimetric and fluorescence sensing system for the detection of captopril based on Fe/NC nanozymes and carbon dots. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 282, n. July, p. 121683, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121683>.

XU, L. *et al.* Preparation of chitosan molecularly imprinted polymers and the recognition mechanism for adsorption of alpha-lipoic acid. **Molecules**, v. 25, n. 2, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25020312>.

YILMAZ, H.; BASAN, H. Preconcentration of indapamide from human urine using molecularly imprinted solid-phase extraction. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 17, p. 3090-3095, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201500427>.

YING, X.; HE, J.; LI, X. Molecularly imprinted electrospun fiber membrane for colorimetric detection of hexanoic acid. **E-Polymers**, v. 21, n. 1, p. 500-510, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1515/epoly-2021-0049>.

YU, M. *et al.* LC-MS determination of fentanyl in human serum and application to a fentanyl transdermal delivery pharmacokinetic study. **Bioanalysis**, v. 9, n. 20, p. 1551-1560, 2017. DOI: <https://doi.org/10.4155/bio-2017-0174>.

ZENG, S. *et al.* Molecularly imprinted polymer for selective extraction and simultaneous determination of four tropane alkaloids from *Przewalskia tangutica* Maxim. fruit extracts using LC-MS/MS. **RSC Advances**, v. 5, n. 115, p. 94997-95006, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5RA18608K>.

ZEMANN, A. J *et al.* Contactless Conductivity Detection for Capillary Electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 70, p. 563-567, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac9707592>.

ZHAO, C.; REN, Y.; LI, G. Detection of naringin by fluorescent polarization molecularly imprinted polymer. **Polymer Bulletin**, n. 0123456789, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04115-3>.

ZHOU, T. *et al.* Recent advances and trends of molecularly imprinted polymers for specific recognition in aqueous matrix: Preparation and application in sample pretreatment. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 114, p. 11-28, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.028>.

ZUO, J. *et al.* Preparation of monoethyl fumarate-based molecularly imprinted polymers and their application as a solid-phase extraction sorbent for the separation of scopolamine from tropane alkaloids. **RSC Advances**, v. 9, n. 34, p. 19712-19719, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/C9RA03542G>.