



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

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE UM SORVENTE
MONOLÍTICO POLIMÉRICO PARA PREPARAÇÃO RÁPIDA E PORTÁTIL DE
AMOSTRAS**

Dissertação de Mestrado

LAÍS DE MOURA BIFE CASTILHO

Orientador

PROF. DR. ANIZIO MARCIO DE FARIA

**ITUIUTABA, MG
ABRIL DE 2023**

LAIS DE MOURA BIFE CASTILHO

**Desenvolvimento, caracterização e aplicação de um sorvente monolítico
polimérico para preparação rápida e portátil de amostra**

Dissertação de mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
graduação do Instituto de Química da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito para obtenção do título de Mestre
em Química.

Candidata: **Laís de Moura Bife Castilho**

Orientador: Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria

Linha de pesquisa: Instrumentação Analítica e Preparo de Amostras

Ituiutaba, MG

Abril de 2023

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

C352 2023	Castilho, Laís de Moura Bife, 1999- Desenvolvimento, caracterização e aplicação de um sorvente monolítico polimérico para preparação rápida e portátil de amostras [recurso eletrônico] / Laís de Moura Bife Castilho. - 2023. Orientador: Anizio Marcio de Faria. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.255 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Química. I. Faria, Anizio Marcio de, 1977-, (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:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 369, PPGQUI				
Data:	Vinte e oito de março de dois mil e vinte e três	Hora de início:	09:05	Hora de encerramento:	11:20
Matrícula do Discente:	12112QMI013				
Nome do Discente:	Laís de Moura Bife Castilho				
Título do Trabalho:	“Desenvolvimento, caracterização e aplicação de um sorvente monolítico polimérico para preparação rápida e portátil de amostra.”				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Instrumentação analítica e preparo de amostras				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	“Desenvolvimento de sorventes monolíticos poliméricos na ponteira descartável de micropipeta”				

Reuniu-se, no auditório III Campos Pontal e por webconferência através do link: meet.google.com/xru-zpvh-vxs, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: André Luiz dos Santos, da Universidade Federal de Uberlândia; Louise Lee da Silva Magalhães, da Universidade Federal do Maranhão e Anizio Marcio de Faria, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Anizio Marcio de Faria, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu a 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 Mestre.

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 **Andre Luiz dos Santos, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/04/2023, às 11:25, 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 28/04/2023, às 11:25, 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 **Louise Lee da Silva Magalhães, Usuário Externo**, em 02/05/2023, às 13:43, 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, informando o código verificador **4318806** e o código CRC **446F26D0**.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, Veridiana e Carlos, a minha irmã Beatriz, ao Dr. Anizio Marcio de Faria e aos meus amigos pelo carinho, paciência e todos os ensinamentos que me ajudaram a crescer e a atingir meus objetivos.

Muito obrigada!

EPÍGRAFE

*“O tamanho dos seus sonhos deve sempre
exceder a sua Capacidade de alcançá-los.
Se os seus sonhos não te assustam, eles
não são Grandes o suficiente.”*

(Ellen Hohanson-Sirleaf)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meus pais, Carlos e Veridiana, a minha irmã Beatriz e a todos os meus familiares que me apoiaram, ajudaram e torceram por mim durante essa jornada. Sem o apoio de vocês não teria conseguido hoje apresentar minha dissertação de mestrado.

Agradeço também a Deus por me dar forças e ajudar nos momentos que pensei que não conseguiria e por sempre estar me orientando para o melhor caminho.

Ao Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria, primeiramente pelo aceite de continuar me orientando nessa nova jornada que foi o mestrado, por toda dedicação e paciência. Agradeço por ser um excelente profissional que inspira seus alunos a serem mais dedicados e por todos os seus ensinamentos.

Ao meu grupo de pesquisa CroMat, em especial ao Me. Allyson Leandro, e por todos os amigos de laboratório obrigada pelos incentivos, troca de ideias, apoio e companheirismo.

À técnica Dra. Carolina, do Laboratório de Multiusuários da UFU Pontal, pelo suporte e ajuda nas análises realizadas.

Aos meus amigos da minha cidade Penápolis e a todas as amizades que criei e cultivei em Ituiutaba.

Agradeço às agências de fomento que viabilizaram a realização do mestrado: à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida (Código 001); à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo financiamento da infraestrutura laboratorial (código: 01.11.0135.00) e de equipamentos (código: 01.13.0371.00) empregados na pesquisa; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo financiamento do projeto (APQ-01901-22).

Agradeço a todos que contribuíram direta e indiretamente no desenvolvimento desse trabalho e no meu crescimento profissional.

RESUMO

Em uma análise química o preparo de amostras é a etapa fundamental para se ter um resultado reproduzível, exato e confiável. Os métodos mais convencionais do preparo de amostra são a extração líquido-líquido e a extração em fase sólida, porém devido as desvantagens desses processos buscou-se por métodos de preparação de amostras que reduzem a geração de resíduos tóxicos, totalmente portáteis, miniaturizados e que demandam microvolumes de solventes orgânicos. Um método encontrado que cumpre esses requisitos é a extração em ponteiras descartáveis (DPX), entretanto esse método possui baixa disponibilidade comercial de sorventes (seletividade limitada), além da necessidade de filtros para retenção do sorvente dentro das ponteiras. A proposta deste trabalho foi a substituição do pó finamente dividido por um sorvente monolítico orgânico para extração de compostos orgânicos de amostras aquosas. Foi sintetizado um monolito polimérico orgânico a partir da polimerização *in situ* de trimetilolpropano triacrilato (TMPTA), ácido metacrílico (MAA) e etilenoglicol dimetil metacrilato (EDMA), empregando o isopropanol como agente porogênico e a 2,2'-azobisisobutironitrila (AIBN) como iniciador radicalar. As proporções entre os reagentes foram avaliadas para obtenção dos monolitos com estrutura rígida, altamente porosa e compatível com processos de extração em fluxo contínuo. Sendo a melhor condição obtida a de 70 % isopropanol, 5 % TMPTA, 5 % MAA e 20 % EDMA. Os monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) foram caracterizados morfológica e estruturalmente e apresentaram uma estrutura sólida composta de núcleos globulares e área superficial específica de $81,27 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Os resultados obtidos por espectroscopia no infravermelho e por termogravimetria confirmaram a completa polimerização. Os monolitos produzidos foram empregados na extração de cafeína de amostras de água. A remoção da cafeína da água foi realizada através da interação do monolito com o analito. A sorção de cafeína nos monolitos se mostrou satisfatória e adequada para a extração rápida e totalmente portátil, com possibilidade de aplicação *in loco*, de xantinas em amostras aquosas com os monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) em ponteiras de micropipeta.

PALAVRAS-CHAVE

Extração em ponteiras descartáveis, poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA), cafeína, polimerização *in situ*, amostras aquosas.

ABSTRACT

Sample preparation is the fundamental step in a chemical analysis to obtain a reproducible, accurate, and reliable result. The most conventional methods of sample preparation are liquid-liquid extraction and solid-phase extraction. However, these methods have some disadvantages leading to the search for alternative sample preparation methods that reduce the generation of toxic waste, are fully portable, miniaturized, and require microvolumes of organic solvents. One method that meets these requirements is disposable pipette extraction (DPX). However, this method has low commercial availability of sorbents (limited selectivity) and requires filters to retain the sorbent inside the tips. In this work, we proposed replacing the finely divided powder with a monolithic organic sorbent for organic compounds from aqueous samples. An organic polymeric monolith was synthesized by *in situ* polymerization of the trimethylolpropane triacrylate (TMPTA), methacrylic acid (MAA), and ethylene glycol dimethyl methacrylate (EDMA), using isopropanol as a porogenic and 2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN) as a radical initiator. The proportion of the monomers was optimized to obtain monoliths with a rigid structure, highly porous, and compatible with continuous flow extraction processes. The best condition reached was 70 % isopropanol, 5 % TMPTA, 5 % MAA, and 20 % EDMA. The poly(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) monoliths were characterized morphologically and structurally and showed a solid structure composed of globule nuclei and a specific surface area of $81.27 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. The results of infrared spectroscopy and thermogravimetric analysis confirmed the complete polymerization. The produced monoliths were used to extract caffeine from water samples. The caffeine extraction from water samples was reached through the interaction of the monolith with the analyte. Caffeine sorption in the monoliths proved to be satisfactory and suitable for rapid and fully portable extraction, with the possibility of *in-loco* application of xanthine in aqueous samples with the poly(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) monoliths in the micropipette tips.

KEY WORDS

Extraction in disposable tips, poly(TMPTA-co-MAA-co-EDMA), caffeine, *in situ* polymerization, aqueous samples.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AIBN – 2,2'-azobisisobutironitrila
BET – Brunauer-Emmett-Teller
BJH – Barrett-Joyner-Halenda
 C_e – Concentração na solução em equilíbrio
 D_p – Diâmetro de poros
DPX – Extração em ponteiros descartáveis
EDMA – Etilenoglicol dimetacrilato
ETA – Estação de tratamento de água
FTIR – Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
HPLC – *High-Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
 k_F – Constante de capacidade de adsorção de Freundlich
LED - *Light emitting diode*
LEMUP – Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal
MAA – Ácido metacrílico
MeOH – Metanol
MEV - Microscopia eletrônica de varredura
MIP – Polímeros impressos molecularmente
NIP – Polímeros não impressos
PEG – Polietilenoglicol
Poli(TMPTA-co-EDMA) – Poli(trimetilolpropano etoxilato triacrilato-co-etilenoglicol dimetacrilato)
Poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) – Poli(trimetilolpropano etoxilato triacrilato-co-ácido metacrílico-co-etilenoglicol dimetacrilato)
PS-DVB – Poli(estireno-co-divinilbenzeno)
 Q_{MAX} – Capacidade máxima de adsorção
SPE – *Solid phase extraction* (Extração em fase sólida)
TEOS – Tetraetoxissilano
TGA – Análise termogravimétrica
TMOS – Tetrametoxissilano
TMPTA – Trimetilolpropano triacrilato
UV – Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de uma ponteira descartável empregada na DPX. _____	15
Figura 2. Esquema das etapas da extração em ponteira descartável de polipropileno. _____	16
Figura 3. Estrutura dos compostos (A) TMPTA, (B) MAA, (C) EDMA e (D) AIBN. _____	19
Figura 4. Estrutura molecular da cafeína. _____	22
Figura 5. Fluxograma do processo de preparação do monolito de poli(TMPTA-EDMA). _____	26
Figura 6. Sistema extração Soxhlet empregado na extração de resíduos de monômeros dos monolitos poliméricos. _____	28
Figura 7. Fluxograma do procedimento para determinação do tempo de contato entre o adsorvente e o adsorbato. _____	30
Figura 8. Fluxograma do procedimento para o estudo de adsorção da cafeína nos monolitos. _____	31
Figura 9. Processo de extração DPX empregando o sorvente monolítico poli(TMPTA-co-MMA-co-EDMA) proposto neste trabalho. _____	34
Figura 10. Ponteira com produto da polimerização do TMPTA e EDMA na condição experimental #1. _____	38
Figura 11. Monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) nas condições otimizadas de polimerização in situ. _____	41
Figura 12. Monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) após a extração Soxhlet com (a) acetona e (b) acetonitrila. _____	42
Figura 13. Monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) impressos molecularmente com cafeína a (a) 0,10 mol L ⁻¹ e a (b) 0,25 mol L ⁻¹ . _____	43
Figura 14. Espectro de absorção molecular na região do ultravioleta do solvente de extração da molécula modelo (cafeína) na impressão molecular do poli(TMPTA-co-EDMA). _____	44
Figura 15. Curva analítica de soluções aquosas de cafeína em $\lambda = 274$ nm. _____	44
Figura 16. Variação da massa do monolito em função do tempo de contato com água e metanol para (A) NIP e (B) MIP de poli(TMPTA-co-EDMA). _____	45
Figura 17. Variação da porosidade (%) do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) em função do tempo. _____	47
Figura 18. Isotermas de adsorção e dessorção de gás N ₂ nos monolitos (A) NIP, (B) MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e (C) poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA). _____	49
Figura 19. Micrografias dos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) (A) NIP 20kx; (B) NIP 10kx; (C) MIP 20kx; (D) MIP 10kx. _____	50
Figura 20. Curvas TG para os monolitos NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e para os monômeros TMPTA e EDMA. _____	51
Figura 21. Espectro FTIR para (A) os monômeros TMPTA e EDMA e para (B) os monolitos NIP, MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA). _____	53

Figura 22. Curva analítica para quantificação espectrofotométrica de soluções aquosas da cafeína em 270 nm. _____	54
Figura 23. Tempo de equilíbrio para adsorção de cafeína nos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) (A) NIP e (B) MIP. _____	55
Figura 24. Isoterma de adsorção da cafeína no monolito NIP de poli(TMPTA-co-EDMA), obtida a partir do modelo linearizado de Langmuir. _____	56
Figura 25. Isoterma de adsorção da cafeína no monolito MIP de poli(TMPTA-co-EDMA), obtida a partir do modelo linearizado de Freundlich. _____	57
Figura 26. Extração de cafeína pelos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) sob diferentes condições da amostra. N = 3. _____	60
Figura 27. Extração da cafeína pelo monolito poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) em função do número de ciclos de aspiração/descarte da amostra de água com 5 % (m/v) de NaCl. N = 3. _	61
Figura 28. Efeito de solventes extratores na dessorção da cafeína dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) no processo de extração DPX. N = 3. _____	62
Figura 29. Efeito do número de ciclos de eluição com solvente extrator pelo monolito poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) para extração da cafeína de amostras aquosas. N = 3. _____	63
Figura 30. Reutilização dos monolitos na extração de cafeína de amostras de água. N = 3. _	64
Figura 31. Comparação da extração da cafeína de amostras de água pelos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA): (A) retenção da cafeína nos monolitos e (B) eluição da cafeína dos monolitos. N = 3. _____	65
Figura 32. Retenção e eluição da cafeína extraída de amostras de água fortificadas pelo método otimizado DPX com os monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA). N = 3. _____	66
Figura 33. Comparação dos métodos SPE e DPX com monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) na extração de cafeína de água e na posterior eluição da cafeína do sorvente. N = 3. _	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporções dos componentes utilizados no estudo de otimização da síntese do monolito poli (TMPTA-co-EDMA) _____	25
Tabela 2. Proporções do TMPTA:EDMA utilizadas no estudo de otimização da síntese do monolito poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA). _____	27
Tabela 3. Estudo da vazão utilizando um manifold a vácuo e eluição de água pelos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) através da micropipeta de 100 a 1000 μ L. N = 3. _____	39
Tabela 4. Vazão e degradação dos monolitos na remoção de resíduos pós-polimerização dos monolitos poli(TMPTA-co-EDMA). _____	41
Tabela 5. Grau de inchamento dos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) após contato com água e metanol. _____	46
Tabela 6. Propriedades morfológicas dos monolitos NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA). _____	48
Tabela 7. T_{onset} do poli(TMPTA-co-EDMA) NIP e MIP e dos monômeros de TMPTA e EDMA extraídas das curvas TG dos materiais e reagentes. _____	52

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Preparo de amostras	14
1.2 Sorventes monolíticos	17
1.2.1 Monolito polimérico orgânico	18
1.3 Funcionalização dos monolitos	20
1.3.1 Impressão molecular	21
1.4 Cafeína	22
2 OBJETIVOS	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 Reagentes e solventes	25
3.2 Preparação das ponteiros com as fases monolíticas	25
3.2.1 Síntese do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA)	25
3.2.2 Síntese do monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)	26
3.2.3 Impressão molecular da cafeína nos monolitos	27
3.2.4 Extração Soxhlet de reagentes dos monolitos polimerizados	27
3.2.5 Avaliação da permeabilidade de líquidos pelos monolitos	28
3.2.6 Avaliação do grau de inchamento dos monolitos	28
3.2.7 Avaliação da porosidade total dos monolitos	29
3.2.8 Estudo da capacidade adsorptiva do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA)	29
3.3 Caracterização físico-química das fases monolíticas	31
3.3.1 Densidade real dos monolitos	31
3.3.2 Microscopia eletrônica de varredura	31
3.3.3 Área superficial específica e porosidade	32
3.3.4 Análise termogravimétrica	32
3.3.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier	33
3.4 Otimização da extração da cafeína de amostras de água	33
3.4.1 Solução de cafeína a 0,2 mg L ⁻¹	33
3.4.2 Solvente extrator	34
3.4.3 Reutilização dos monolitos	35
3.5 Aplicabilidade da extração na ponteira com poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)	35
3.5.1 Extração em fase sólida da cafeína de amostras de água	36

3.6 Análise cromatográfica _____	36
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO _____	37
4.1 Síntese dos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) ____	37
4.1.1 Remoção de resíduos de reagentes das fases monolíticas _____	41
4.2 Síntese do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) impresso com cafeína _____	42
4.3 Caracterização morfológica e estrutural das fases monolíticas _____	45
4.3.1 Grau de inchamento _____	45
4.3.2 Porosidade total das fases monolíticas _____	46
4.3.3 Área superficial específica e porosidade _____	47
4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura _____	50
4.3.5 Análise termogravimétrica _____	51
4.3.6 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier _____	52
4.5 Otimização da extração de cafeína via DPX com poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) _____	59
4.5.1 Uso de aditivos na amostra _____	59
4.5.2 Solvente extrator _____	61
4.5.3 Reutilização das fases monolíticas _____	63
4.5.4 Comparação das extrações da cafeína pelas fases monolíticas na ponteira _____	64
4.6 Aplicabilidade da extração DPX com poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) _____	65
5 CONCLUSÕES _____	68
REFERÊNCIAS _____	70

1 INTRODUÇÃO

1.1 Preparo de amostras

O preparo de amostra é a etapa mais importante de uma análise química, pois é durante essa etapa que o erro se propaga de forma mais significativa e que se consome o maior tempo, podendo resultar em perda do analito e contaminação da amostra se não realizada da forma mais eficiente (MAJORS, 2015). A etapa da preparação da amostra envolve a extração/isolamento do analito de constituintes da amostra, a remoção de interferentes da análise, e a concentração do(s) analito(s) em níveis traço para a detecção instrumental. A execução adequada dessa etapa é, portanto, importante para a obtenção de resultados confiáveis, reprodutíveis e exatos em uma análise química (JARDIM, 2010).

Os métodos de preparo de amostra convencionais são laboriosos, demorados e com alto consumo de sorventes orgânicos tóxicos e caros, gerando grandes volumes de resíduos tóxicos. A extração líquido-líquido (LLE, *liquid-liquid extraction*) foi o principal método de preparação de amostras visando a extração de compostos orgânicos por quase um século. A LLE, também chamada de extração com solventes, envolve a partição dos analitos entre dois líquidos imiscíveis entre si. Apesar de alta eficiência na extração do analito, a LLE apresenta diversas dificuldades como necessidade de uma etapa de limpeza, formação de emulsões, consumo de volumes grandes de solventes e dificuldade de concentração de analitos em níveis traço. Devido às desvantagens da extração líquido-líquido, no final da década de 1970 desenvolveu-se a extração em fase sólida (SPE, *solid phase extraction*).

Na SPE a amostra é eluída por um cartucho contendo a fase sólida, o sorvente extrator, previamente condicionado. Os compostos presentes na amostra são retidos no sorvente e os interferentes são removidos com a lavagem da fase sólida com um solvente de baixa afinidade pelo analito. Após a lavagem os analitos são retirados da fase sólida pela passagem de outros solventes orgânicos que possuem maior afinidade pelos analitos, obtendo os extratos limpos. Ao comparar os dois métodos de preparação de amostras supracitados, a SPE possui algumas vantagens como menor consumo de solvente, não formação de emulsões, facilidade de automação e geração de menor volume de resíduos. Contudo, a SPE apresenta desvantagens como tempo de extração

relativamente elevado, alto custo dos cartuchos, necessidade de sistemas à vácuo para extrações rápidas e simultâneas (*manifolds*) etc. (EIROA *et.al.*, 2016; JARDIM, 2010).

A busca por métodos de preparação de amostras que sejam rápidos, que não consumam volumes grandes de solventes orgânicos e que não gerem resíduos tóxicos, que sejam miniaturizados e portáteis tem sido intensa na análise química. Uma alternativa que vem atendendo a estes requisitos é a extração em ponteiras descartáveis (DPX, *disposable pipette extraction*), uma variante miniaturizada da SPE, desenvolvida pelo Doutor William Brewer em 2003 (BORDIN; ALVES; CAMPOS; MATINIS, 2016). A extração em ponteira descartável utiliza uma ponteira de polipropileno convencional com volumes de 1 a 5 mL, contendo uma pequena quantidade de sorvente de SPE, na forma de pó finamente dividido, disperso entre dois filtros de vidro sinterizado (fritas), um em cada extremidade da ponteira. O filtro da extremidade superior assegura que nenhum tipo de resíduo sólido passe para o interior da micropipeta, já o filtro da extremidade inferior (ponta) proporciona uma barreira permeável para que haja a passagem do líquido da amostra e de solventes nos dois sentidos (aspiração e expulsão). Ambos os filtros possuem diferentes funções, porém juntos garantem a retenção do sorvente dentro da ponteira (PINTO, QUEIROZ, 2015). A Figura 1 apresenta o esquema de uma ponteira descartável proposta pelo Dr. Brewer.

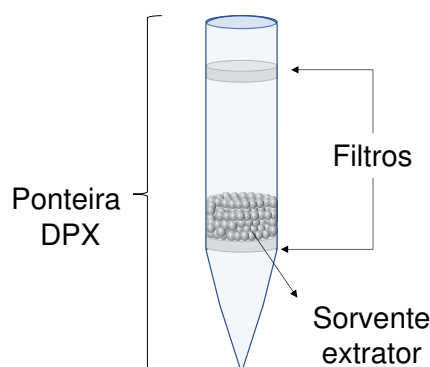


Figura 1. Esquema de uma ponteira descartável empregada na DPX.

O Primeiro material de DPX comercial foi baseado na cromatografia líquida clássica, utilizando como fase extratora partículas de sílica ligadas quimicamente por moléculas C₁₈. No entanto, até os dias atuais, ainda há poucos materiais disponíveis comercialmente para utilização como sorvente para a DPX (PINTO, QUEIROZ, 2015; CHAVES *et. al*, 2015).

A extração DPX consiste em um processo de 6 etapas. A primeira etapa (1) consiste no condicionamento da fase extratora por um solvente apropriado para a ativação dos sítios de ligações, em alguns casos essa etapa não é necessária. Após o condicionamento, (2) a amostra é aspirada para o interior da ponteira entrando em contato com o sorvente. Na etapa subsequente, (3) ocorre a aspiração de ar para a completa mistura da amostra com a fase extratora, formando uma suspensão, possibilitando uma extração rápida e eficiente. (4) Comunalmente, após 30 s a amostra é dispensada com o auxílio de uma micropipeta. Após dispensada a amostra, (5) o sorvente passa por uma etapa de limpeza – “clean-up”, e por último, (6) é realizada a eluição do analito através de um solvente de alta afinidade pelo analito (PINTO, QUEIROZ, 2015). O esquema que apresenta as etapas envolvidas na extração na DPX é mostrado na Figura 2.

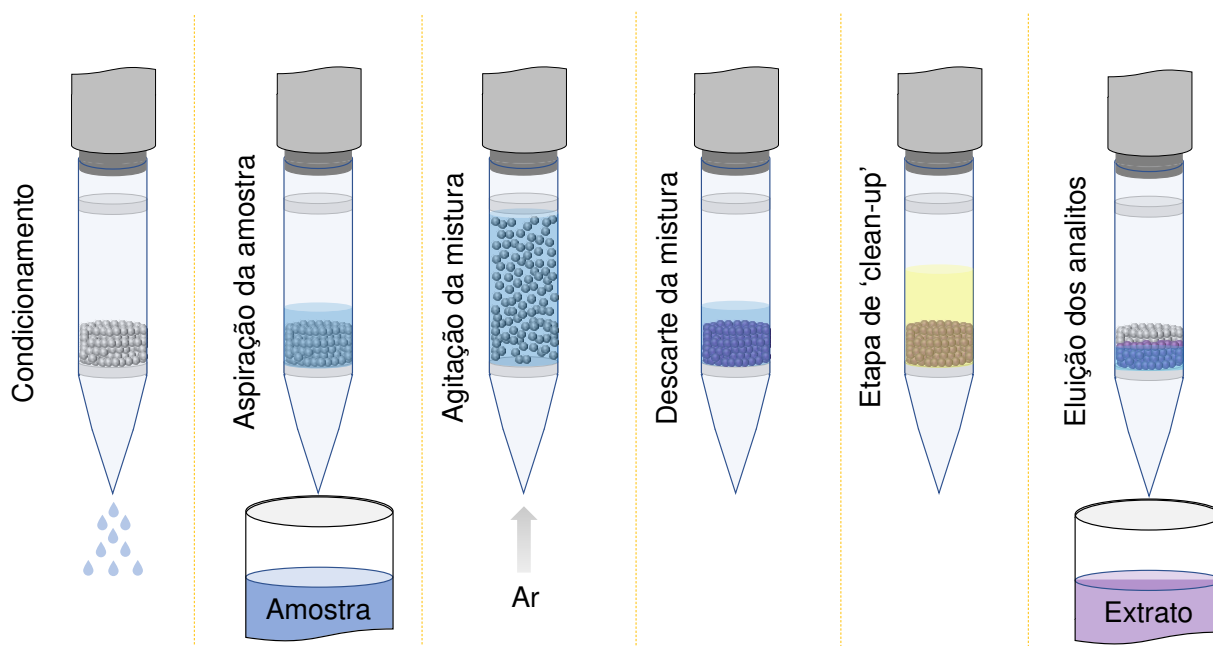


Figura 2. Esquema das etapas da extração em ponteira descartável de polipropileno.

A busca por sorventes a serem empregados na DPX tem sido motivo de estudo de vários grupos de pesquisa ao redor do mundo (CORAZZA *et al.*, 2017; MAFRA *et al.*, 2018). A disponibilidade comercial de sorventes para DPX ainda é limitada, sendo normalmente empregados partículas de sílica, octil (C₈) e octadecilsilano (C₁₈) quimicamente ligados a partículas de sílica, partículas poliméricas de poli(estireno-co-divinilbenzeno) (PS-DVB), PS-DVB ligados com grupos sulfônicos/carboxílicos ou aminoquaternários, entre outros (PINTO, QUEIROZ, 2015).

Uma importante vantagem da DPX é a quantidade mínima do sorvente extrator na ponteira, caracterizando o sistema como uma miniaturização da SPE que, desta forma, requer a utilização de menores volumes de amostra e, principalmente, de solvente orgânico, resultando em geração reduzida de resíduos na etapa de preparação de amostra. Além disso, a extração em ponteiras descartáveis permite uma alta frequência analítica, demandando de sistema simples de operação, apenas uma micropipeta (PINTO, QUEIROZ, 2015). Contudo, o método DPX ainda necessita de aprimoramento, pois apresenta algumas desvantagens importantes, como a baixa disponibilidade comercial de sorventes resultando em baixa seletividade, e o fato desses sorventes se encontrarem na forma de partículas, necessitando de filtros para a sua retenção dentro das ponteiras. Assim, torna-se necessária a utilização de sistema de vácuo ou de pressão para um processo de extração rápido e eficiente, em virtude da restrição à passagem de líquido e/ou entupimento dos filtros, dependendo da amostra. Uma alternativa para contornar as desvantagens da DPX é a substituição do pó finamente dividido por um sorvente constituído de uma partícula única, sorvente monolítico, altamente porosa e imobilizada na ponteira descartável de polipropileno sem a necessidade, portanto, de filtros na ponteira e, conseqüentemente, sem a possível necessidade de uso de sistemas de pressão/vácuo para acelerar o processo de eluição. Nesta perspectiva, espera-se também tornar totalmente portátil o sistema de extração, possibilitando sua utilização no local em que se encontra a amostra.

1.2 Sorventes monolíticos

A ideia inicial de um material único, poroso e contínuo surgiu através de uma publicação realizada em 1952 por Mould e Synge, na qual informava sobre um bloco de gel poroso contínuo que posteriormente foi chamado de monolito polimérico. A primeira aplicação dos monolitos foi na década de 1970 como fases estacionárias, porém, somente nos anos 2000 a partir do desenvolvimento das técnicas de preparação e moldagem houve uma ampla aplicação em colunas cromatográficas (FARIA *et al.*, 2006). Os estudos de fases estacionárias monolíticas para colunas capilares de cromatografia líquida ou para eletrocromatografia capilar permitiram o início do desenvolvimento desse material como sorvente monolíticos extratores (NEMA, CHAN, HO, 2014).

O sorvente monolítico é um material contínuo e integrado, como se fosse uma partícula única, com macroporos e mesoporos e que pode se aderir às paredes internas

das ponteiros descartáveis durante o processo de polimerização, dessa maneira, não sendo necessários filtros para sua imobilização. As propriedades únicas dos monolitos, como a facilidade de incorporação de diferentes grupos e a possibilidade de preparação e funcionalização em uma única etapa, possibilitou o seu uso em uma ampla variedade de aplicações (FARIA *et al.*, 2006; NISCHANG, 2013; FRESCO-CALA, CÁRDENAS, 2018). Os monolitos podem ser classificados a partir da sua natureza como (i) orgânicos, polímeros a base de metacrilatos, acrilatos, acrilamidas etc.; (ii) inorgânicos, como sílica, alumina, zircônia, titânia etc.; ou (iii) híbridos, como sílica modificada com grupamentos orgânicos (SVEC, 2004; ZHU, ROW, 2012).

Os monolitos inorgânicos são sintetizados normalmente a partir de zircônia, titânia, mas principalmente, a partir da sílica. Os monolitos inorgânicos à base de sílica são preparados através do processo sol-gel, no qual o precursor inorgânico utilizado é o tetrametoxissilano (TMOS) ou o tetratoxissilano (TEOS). Contudo, sorventes monolíticos preparados a partir desses precursores apresentam estabilidade química limitada à faixa de pH 2 a 8 (WALSH, PAULL, MACKA, 2012).

Os monolitos poliméricos híbridos, por sua vez, são preparados a partir do processo sol-gel com um reagente organossilano ou do processo sol-gel seguido de uma funcionalização química para resultar em uma estrutura inorgânica-orgânica. No entanto, as limitações de estabilidade química são similares aos monolitos inorgânicos (ZHU, ROW, 2012).

Os monolitos poliméricos orgânicos são normalmente sintetizados através da polimerização *in situ* dos monômeros. Os monolitos orgânicos possuem como base monômeros de acrilatos, metacrilatos, acrilamidas e/ou estireno. Os metacrilatos têm sido os mais empregados para a produção de fases monolíticas, devido à diversidade de monômeros funcionais e à facilidade de derivatização, possibilitando uma ampla faixa de seletividade (NISCHANG, 2013).

1.2.1 Monolito polimérico orgânico

Os monolitos poliméricos orgânicos têm como vantagem principal a ampla disponibilidade de reagentes monoméricos e a possibilidade de funcionalização durante ou após o processo de polimerização, além de uma preparação mais simples e rápida que os monolitos inorgânicos (FARIA *et al.*, 2006). A preparação do monolito envolve a escolha adequada de monômeros funcionais, condições de polimerização e solventes

porogênicos. A variação dessas componentes influenciará na distribuição de tamanho dos poros, na área superficial específica, nas propriedades químicas da superfície, no grau de rigidez, inchaço e encolhimento da estrutura (SABARUDIN, 2018). O monolito orgânico polimérico é sintetizado a partir de uma mistura de monômeros funcionais, agente entrecruzante, reagente de iniciação radicalar e agentes porogênicos. A natureza do monolito e os tamanhos dos poros são determinados a partir da razão estequiométrica desses compostos juntamente com o tipo de polimerização.

O agente entrecruzante é necessário para que ocorra a formação de poros através do espaçamento entre as camadas dos monômeros, enquanto o reagente de iniciação é responsável por iniciar a polimerização. Na forma mais comum de atuação, o agente de iniciação quebra as duplas ligações dos monômeros formando radicais livres e esses radicais livres reagem entre si, iniciando o processo de polimerização das unidades monoméricas. O solvente porogênico é utilizado como solvente para os monômeros dissolvendo-os na mistura reacional, porém se tornando um não-solvente para o polímero após o processo de polimerização, formando e moldando as cavidades (poros) na estrutura polimérica. Após o processo de polimerização os solventes porogênicos são eliminados por lavagem com solventes que os solubilizem. A Figura 3 apresenta a estrutura dos monômeros, o TMPTA (trimetilolpropano triacrilato) e o MAA (ácido metacrílico), do agente de entrecruzamento EDMA (etilenoglicol dimetacrilato) e do reagente de iniciação AIBN (2,2'-azobisisobutironitrila).

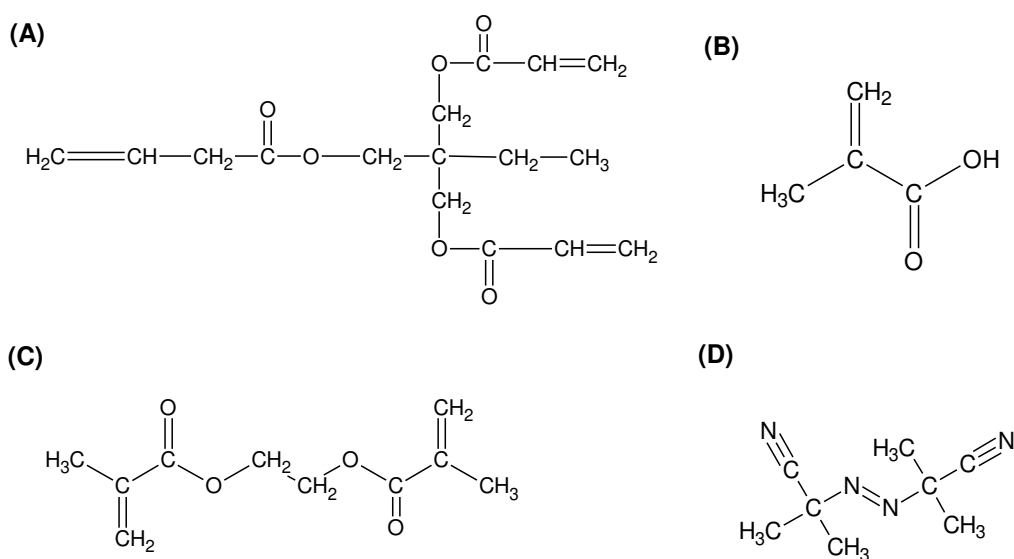


Figura 3. Estrutura dos compostos (A) TMPTA, (B) MAA, (C) EDMA e (D) AIBN.

Um monolito polimérico orgânico sintetizado com dois monômeros funcionais, sendo um deles o MAA, permite que o monolito apresente um polímero hidrofóbico em conjunto com os grupamentos ácidos carboxílicos do MAA, possibilitando uma interação eletrostática com os analitos ou com outros agentes de derivatização para uma posterior funcionalização do monolito. O uso do MAA confere ao monolito polaridade que pode ser importante para empregá-lo como sorvente para analitos básicos (SORRIBES-SORIANO *et. al.*, 2019).

A polimerização do monolito ocorre em cadeia, iniciada por radicais livres, em três etapas: iniciação, propagação e término. Primeiramente, o iniciador gera um radical de alta energia que reage imediatamente com o monômero, convertendo-o em uma nova espécie radical que reagirá com outras moléculas do monômero, isso acontece de maneira contínua, levando ao crescimento da cadeia polimérica. Entre os tipos de polimerização, a do tipo radical livre é amplamente utilizada em indústrias para a produção em escala multitoneladas, principalmente devido à grande disponibilidade comercial de monômeros (SABARUDIN, 2018; CORMACK, ELORZA, 2004).

A polimerização pode ser iniciada através do aquecimento (polimerização térmica) ou por radiação UV (ultravioleta) (fotopolimerização). Apesar da fotopolimerização apresentar vantagens em relação a polimerização térmica, como a rapidez de reação, a polimerização térmica é mais utilizada, tendo em vista a maior robustez e menor variação da energia do equipamento, bem como requerer equipamentos e materiais mais disponíveis em laboratório, como fornos, estufas, muflas etc. Porém, em ambos os métodos é necessário que a mistura reacional não apresente oxigênio dissolvido, dessa forma o gás não interagirá com os radicais livres da solução e, conseqüentemente, não diminuirá a taxa de polimerização (FARIA *et al.*, 2006; SABARUDIN, 2018). Faz-se, portanto, necessária uma etapa de desaeração da mistura reacional antes da etapa de polimerização. Após ou durante a polimerização é possível dar seletividade para o monolito através de uma etapa de funcionalização.

1.3 Funcionalização dos monolitos

A seletividade do sorvente monolítico polimérico pode ser assegurada durante a etapa de funcionalização, que pode ser realizada a partir da derivatização da sua estrutura com grupamentos orgânicos apropriados ou por meio de impressão molecular;

durante o processo de polimerização (*in situ*) e; após a polimerização (reação *post-column*) (SABARUDIN, 2018; BUCHMEISER, 2007).

A impressão molecular é altamente utilizada por ser um método de uma preparação simples e de baixo custo, produzir materiais com alta resistência mecânica, durabilidade ao calor e pressão e estabilidade de armazenamento, bem como pode ser realizada simultaneamente ao processo de polimerização e o *template* ser removido durante a etapa de remoção de reagentes não polimerizados, ou seja, sem adição de etapas no processo de preparação (SUN, QUIAO, LIU, 2006).

1.3.1 Impressão molecular

O termo impressão molecular foi primeiramente proposto pelo químico M.V. Polyakov em 1931, porém, foi nos anos 1970 com os estudos de Wulff e Sarhan e nos anos 1980 com Arshady e Mosbach que surgiu a nova era da impressão molecular (POLYAKOV, 1931; WULFF, SARHAN, 1972; ARSHADY, MOSBACH, 1981).

Os MIPs (*molecularly imprinted polymers*) podem ser preparados por diferentes métodos, como polimerização em suspensão, polimerização em emulsão, polimerização por precipitação, por processos sol-gel etc. Porém, o método mais empregado é a polimerização em *bulk*. A técnica de impressão molecular permite imprimir nas cavidades poliméricas alguns sítios seletivos de reconhecimento molecular, moldados a partir de um composto específico, normalmente o próprio analito ou um derivado, molécula modelo ou *template*. Para sintetizar o MIP, primeiramente, o monômero funcional e a molécula modelo interagem por ligações covalentes ou não-covalentes, em seguida, o agente entrecruzante envolve o complexo monômero-*template* para formar um polímero de rede tridimensional. Uma vez que a polimerização se completa, a molécula modelo é extraída, deixando sítios ativos com formato, tamanho, e funcionalidades dentro da estrutura polimérica de forma complementar ao composto alvo, fornecendo alta seletividade para o sorvente extrator. Paralelamente, realiza-se também a síntese de um polímero de referência chamado por NIP (non-imprinted polymer). O NIP é o monólito preparado nas mesmas condições e que apresentam as mesmas propriedades do MIP, porém o NIP não apresenta em sua estrutura os sítios ativos referentes à molécula modelo, como no MIP (WEI *et al.*, 2016; TURIEL, ESTEBAN, 2020; PICHON, HUGON, 2008).

A extração da molécula modelo é uma etapa crítica no processo de preparação do MIP, tendo em vista que uma remoção incompleta da molécula modelo reduz o número de sítios ativos disponíveis para interagir com o analito ou provoca falsos positivos na análise devido à liberação da molécula modelo durante a análise. Para uma eficiência melhor da remoção da molécula modelo é importante considerar a solubilidade no solvente de extração e o grau de ligações cruzadas existentes na estrutura polimérica (LORENZO *et al.*, 2011).

O êxito da impressão molecular é influenciado pela qualidade das interações estabelecidas entre a molécula modelo e o monômero. As interações entre os dois componentes devem ser suficientemente fortes para que, ao finalizar a síntese, o mecanismo de reconhecimento seja favorecido. Dessa maneira, a escolha da molécula modelo deve ser realizada cuidadosamente para que seja possível obter um MIP com sítios ativos bem definidos. O composto deve apresentar algumas características para ser uma molécula modelo ideal, como ser inerte à polimerização, não possuir grupos polimerizáveis, ser solúvel na mistura reacional e ser estável na temperatura de polimerização. Dessa forma, nem todos compostos podem ser usados na síntese do MIP (CORMACK, ELORZA, 2004; TARLEY *et al.*, 2005).

1.4 Cafeína

A cafeína é um alcaloide pertencente ao grupo das xantinas metílicas ou metilxantinas. A cafeína é encontrada em grande escala nas sementes de café e em folhas de chá, porém também está presente no cacau, no guaraná e na erva-mate. Uma grande parte da população consome cafeína processada através de bebidas estimulantes como o chá, o café, o refrigerante e os energéticos (MIRANDA *et al.*, 2021). A Figura 4 apresenta a estrutura da cafeína.

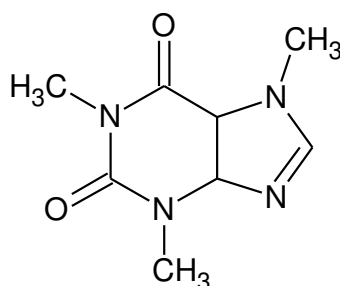


Figura 4. Estrutura molecular da cafeína.

Esse alcaloide é consumido em escala mundial e é o composto psicoativo mais ingerido no mundo. O principal motivo do alto consumo se deve ao seu efeito estimulante no sistema nervoso central, como aumento do estado de alerta e a redução da fadiga. Além disso, a cafeína apresenta atividades anti-inflamatória, diurética e antioxidante. Contudo, o consumo em excesso, ou seja, mais de 600 mg/dia, pode causar irritabilidade, dor de cabeça, aumento da pressão arterial, problemas gastrointestinais entre outros (MIRANDA *et al.*, 2021). Por ser amplamente consumida, há um interesse das autoridades de saúde e órgãos reguladores em controlar a quantidade ingerida de cafeína e a excretada na rede de esgoto. Dessa maneira, é importante monitorar a quantidade de cafeína presente nos alimentos e estudar métodos eficientes para a etapa de preparação da amostra e a pré-concentração da cafeína presente no ambiente, como em águas de rios ou nas residências, após o tratamento na estação de tratamento da água e esgoto (MIRANDA *et al.*, 2021).

A preparação de monolitos com a adição do MAA ou impresso molecularmente dentro de ponteiros descartáveis de micropipetas descartáveis pode levar a um material adsorvente miniaturizado e sem restrição à passagem de líquidos (amostras ou eluentes) com alta seletividade aos compostos de interesse, a partir da modificação de sua estrutura. Neste trabalho, a polimerização *in situ* será realizada a partir dos monômeros de trimetilolpropano triacrilato (TMPTA) e ácido metacrílico (MAA), empregando como agente de entrecruzamento o etilenoglicol dimetacrilato (EDMA) para serem empregados na extração de cafeína de amostras de água. Complementarmente, a impressão molecular da cafeína será avaliada como uma possibilidade de funcionalização das fases monolíticas.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi preparar, caracterizar e aplicar monolitos poliméricos a base de acrilato/metacrilatos para a extração de cafeína de amostras de água em ponteiras descartáveis de micropipetas (DPX). Como objetivo secundário, este trabalho avaliará o uso dos dispositivos produzidos como forma de desenvolver procedimentos analíticos mais simples, totalmente portáteis, econômica e ecologicamente viáveis.

Alguns objetivos específicos foram delineados para alcançar os objetivos principais deste trabalho:

1. Preparação de monolitos poliméricos orgânicos a partir da copolimerização *in situ* de trimetilolpropano triacrilato (TMPTA), ácido metacrílico (MAA) e etilenoglicol dimetacrilato (EDMA) no interior de ponteiras descartáveis;
2. Otimização do processo de síntese do monolito polimérico orgânico, em termos de carga de monômeros, razão molar dos monômeros e solventes porogênicos;
3. Caracterização físico-química e morfológica dos sorventes monolíticos;
4. Desenvolvimento de um método de extração DPX com ponteiras preenchidas com a fase monolítica para extração de cafeína de amostras de água;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e solventes

Para o preparo dos monolitos poliméricos orgânicos no interior de ponteiras descartáveis foram utilizados os seguintes reagentes da Sigma-Aldrich: trimetilolpropano triacrilato (TMPTA); etilenoglicol dimetacrilato (EDMA); ácido metacrílico (MAA); 2,2 – azobisisobutironitrila. Foram empregados os solventes: isopropanol grau PA ACS; metanol grau HPLC; hexanol grau PA ACS; octanol grau PA ACS; água ultrapura a 18,2 MΩ cm. Foi empregada cafeína com 99,5% de pureza da Sigma-Aldrich.

3.2 Preparação das ponteiras com as fases monolíticas

3.2.1 Síntese do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA)

O monolito polimérico orgânico foi preparado pela adição dos monômeros funcionais trimetilolpropano triacrilato (TMPTA), o monômero de entrecruzamento etilenoglicol dimetacrilato (EDMA) e os solventes porogênicos (metanol, isopropanol, hexano, octanol e solução aquosa de polietilenoglicol a 10 % m/v). As quantidades e condições experimentais dos componentes da mistura reacional foram variadas a fim de obter-se monolitos rígidos, de alta porosidade, com boa permeabilidade de água e pronto para ser aplicado na DPX. A Tabela 1 apresenta as condições experimentais estudadas.

Tabela 1. Proporções dos componentes utilizados no estudo de otimização da síntese do monolito poli (TMPTA-co-EDMA)

Monolitos	TMPTA	EDMA	Solvente porogênico
#1	270 µL (25%)	286 µL (25%)	Metanol (758 µL – 50%)
#2	162 µL (15%)	170 µL (15%)	Metanol (1060 µL - 70%)
#3	110 µL (10%)	230 µL (20%)	Metanol (1060 µL - 70%)
#4	220 µL (20%)	115 µL (10%)	Metanol (1060 µL - 70%)
#5	162 µL (15%)	170 µL (15%)	Hexanol (1030 µL - 70%)
#6	162 µL (15%)	170 µL (15%)	Octanol (1010 µL - 70%)
#7	162 µL (15%)	170 µL (15%)	Isopropanol (1065 µL - 70%)

#8	220 μ L (20%)	115 μ L (10%)	Isopropanol (1065 μ L- 70%)
#9	108 μ L (10%)	230 μ L (20%)	Isopropanol (1065 μ L- 70%)
#10	108 μ L (10%)	230 μ L (20%)	Isopropanol (960 μ L) + água (105 μ L) (70%)
#11	108 μ L (10%)	230 μ L (20%)	Isopropanol (960 μ L) + sol. PEG 10 % (105 μ L) (70%)

Após a mistura de todos os reagentes de polimerização em um vial, purgou-se argônio durante 10 minutos, sendo acrescentados 10 μ L do reagente de iniciação 2,2'-azobisisobutironitrila (AIBN). Logo após, foi purgado argônio por mais 10 min no frasco contendo a mistura reacional para remoção do oxigênio dissolvido, fechando o frasco com tampa imediatamente após a purga. O oxigênio reage com os radicais livres, provocando uma polimerização incompleta dos monômeros, por isso é de suma importância a sua retirada da mistura reacional (SABARUDIN, 2018; SAEED *et al.*, 2014). Passado esse período, foram adicionados 150 μ L da mistura reacional em cada ponteira de polietileno de 1000 μ L com sua extremidade de saída vedada e fechando imediatamente a extremidade de conexão à micropipeta com uma tampa de polietileno (típica de vials de 1,5 mL), mantendo o interior da ponteira sob atmosfera inerte. Em seguida, levou-se as ponteiros para a mufla a 60 °C por 20 horas. A condição de termopolimerização foi fixada a partir do trabalho de DING, *et al.* (2018), sendo considerada a condição usual para processos de termopolimerização de metacrilatos. A Figura 5 apresenta o fluxograma do processo de preparação do monolito.



Figura 5. Fluxograma do processo de preparação do monolito de poli(TMPTA-EDMA).

3.2.2 Síntese do monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)

A preparação do monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) foi realizada através da adição do ácido metacrílico (MAA) na síntese do monolito descrita na etapa 3.2.1. O

monolito foi sintetizado a partir da melhor condição determinada no processo de otimização do poli(TMPTA-co-EDMA). A Tabela 2 apresenta as condições estudadas.

Tabela 2. Proporções do TMPTA:EDMA utilizadas no estudo de otimização da síntese do monolito poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA).

Poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)	Razão TMPTA:MAA
#12	7,5 %:2,5 % (3:1)
#13	5,0 %:5,0 % (1:1)
#14	2,5 %:7,5 % (1:3)

3.2.3 Impressão molecular da cafeína nos monolitos

A preparação do polímero impresso molecularmente com cafeína (molécula modelo) foi realizada através da polimerização em *bulk*. O MIP foi sintetizado a partir da melhor condição determinada no processo de otimização do NIP. O NIP foi considerado o monolito produzido na etapa 3.2.1, sem a utilização de molécula modelo de cafeína durante a polimerização *in situ*. Nesta etapa, foram testadas 3 condições de concentração de cafeína 0,01; 0,10 e 0,25 mol L⁻¹, empregando o isopropanol, que foi o agente porogênico otimizado no processo de polimerização *in situ*.

3.2.4 Extração Soxhlet de reagentes dos monolitos polimerizados

Após a etapa de formação do monolito sob diferentes condições, parte do monômero e do agente de entrecruzamento que não se polimerizaram foi removida através do sistema de extração Soxhlet com 30 mL de solvente por 24 horas. Os monolitos foram colocados dentro do corpo extrator Soxhlet entre camadas de algodão hidrófilo comercial. Nesta etapa, foram estudados diferentes tipos de solventes para a extração eficiente dos reagentes não polimerizados, sendo eles: água, metanol, acetona e acetonitrila. A Figura 6 ilustra o sistema de extração Soxhlet montado para a extração dos monolitos.

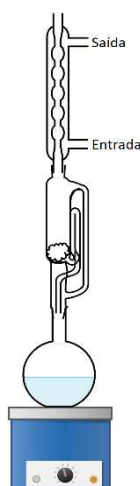


Figura 6. Sistema extração Soxhlet empregado na extração de resíduos de monômeros dos monolitos poliméricos.

3.2.5 Avaliação da permeabilidade de líquidos pelos monolitos

A permeabilidade de líquidos pelos monolitos é de extrema importância para aplicação do sorvente em processos de extração em fluxo contínuo, como ocorre na DPX. A permeabilidade é uma medida quantitativa, em mL min^{-1} que indica a capacidade do monolito eluir amostra e solventes quando contido na ponteira descartável. Primeiramente, os monolitos foram colocados em contato com 10 mL de água por 5 min em um béquer. Em seguida, os monolitos foram retirados da água ultrapura e, úmidos, foram colocados em uma ponteira descartável de 1 mL de capacidade com a extremidade inferior encaixada em uma das portas de um *manifold* à vácuo de 12 portas, tipicamente empregado em extração em fase sólida. Com o vácuo fixado em -30 kPa (registro do manômetro do *manifold*), o tempo necessário para a passagem de 2 mL de água pelas ponteiras com o sorvente monolítico foi cronometrado, obtendo-se a vazão de líquido pelo monolito em mL min^{-1} . Esse procedimento foi realizado, pelo menos, em triplicata para cada condição avaliada durante a preparação dos monolitos. O mesmo procedimento foi realizado empregando como solvente de contato o metanol. A permeabilidade de líquidos pelos monolitos sempre era testada conectando a ponteira contendo o monolito em uma micropipeta manual de capacidade 100 a 1000 μL .

3.2.6 Avaliação do grau de inchamento dos monolitos

O estudo do grau de inchamento do monolito permite analisar se a estrutura monolítica se altera, expandindo ou comprimindo, quando em contato com solventes. O

monolito foi deixado em contato com o solvente por períodos de tempo pré-determinados, sendo posteriormente retirado do béquer, secado o excesso de líquido com papel absorvente e medindo a sua massa em balança analítica ($\pm 0,00001$ g) até a obtenção de uma massa constante. A variação das massas dos monolitos foi registrada em relação ao tempo. O estudo foi realizado em duplicata. O grau de inchamento (S) foi determinado pela Equação 1 (OMIDIAN *et al*, 1998; TOOMEY *et al*, 2004).

$$S = \frac{(m_{MI} - m_{MS})}{m_{MS}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que: m_{MI} (massa do monolito inchado no equilíbrio) e m_{MS} (massa do monolito seco)

3.2.7 Avaliação da porosidade total dos monolitos

A porosidade total do monolito (ε) é definida como o volume total dos poros dividido pelo volume total do monolito poroso, considerando-se as densidades do material analisado e do solvente de saturação. Esta medida foi obtida de forma gravimétrica e calculada através da Equação 2 (DING *et al*, 2020).

$$\varepsilon = \left(\frac{(m_{MS} - m_M) / \rho_S}{\left(\frac{(m_{MS} - m_M)}{\rho_S} \right) + \left(\frac{m_M}{\rho_P} \right)} \right) \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Em que: m_{MS} (Massa de monolito com solvente), m_M (massa monolito seco), ρ_S (densidade do solvente, butanol $0,808 \text{ g cm}^{-3}$ e ρ_P (densidade do polímero).

A porosidade total foi obtida a partir do método de saturação de fluidos, sendo um método simples e de baixo custo que independe de requisitos como regularidade, uniformidade de tamanho e forma, natureza da morfologia e distribuição dos poros na amostra (LU; LI, 2009; HOSSEN *et al*, 2020).

3.2.8 Estudo da capacidade adsortiva do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA)

A determinação da capacidade adsortiva do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) com e sem impressão molecular da cafeína foi realizada através do estudo de adsorção da cafeína nos monolitos produzidos. O processo de adsorção da cafeína causa uma alteração na concentração da substância na solução que é mantida em contato estático

com os monolitos. À medida que o tempo passa, as moléculas de cafeína vão se transferindo da solução para os sítios ativos dos monolitos, reduzindo a sua concentração em solução até alcançar o equilíbrio. Assim, a concentração da cafeína em solução pode ser quantificada, periodicamente, através de medidas de absorbância realizada por um espectrofotômetro UV-Vis a 274 nm, comprimento de máxima absorção da cafeína. As soluções de cafeína foram preparadas em água ultrapura. Para quantificar a cafeína foi construída uma curva analítica a partir das soluções aquosas de 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 mg L⁻¹ de cafeína.

Para determinar o tempo de equilíbrio entre o adsorvente e o adsorbato foi realizado um estudo com um monolito (adsorvente), preparado nas condições otimizadas, em contato com uma solução cafeína a 0,5 mg L⁻¹ (adsorbato), avaliando a concentração de cafeína na solução no intervalo de 0 a 120 min. Para cada tempo estudado foi realizada uma leitura espectrofotométrica para quantificar a concentração de cafeína não adsorvida no suporte, retirando o monolito da solução e pausando o cronômetro. Após a medida, o monolito era recolocado na solução e o cronômetro reiniciado. O processo esquematizado está apresentado na Figura 7.

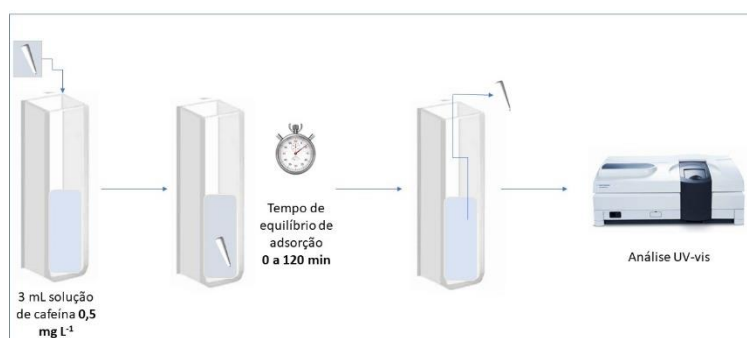


Figura 7. Fluxograma do procedimento para determinação do tempo de contato entre o adsorvente e o adsorbato.

Após a definição do tempo de equilíbrio, 15 min, foi realizado o estudo de adsorção isotérmica (a 22 °C) da cafeína no monolito. As concentrações de cafeína estudadas foram 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,75; 1,0; 2,0; 3,5; 5,0 mg L⁻¹, e 3 mL de cada uma destas foram deixadas em contato com um monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) que foi previamente pesado em balança analítica com precisão de 0,00001 g. Após o contato por 15 min entre os monolitos e as soluções de cafeína, tempo de equilíbrio entre o adsorvente e adsorbato, a absorbância da solução de cafeína foi medida no espectrofotômetro UV-Vis Cary 5000 da Agilent Technologies, no comprimento de 270

nm. O procedimento empregado nesta etapa está apresentado na Figura 8. O estudo foi realizado em duplicata.

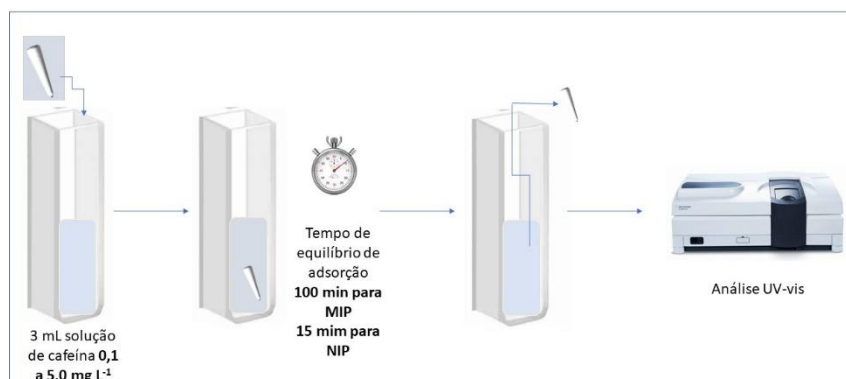


Figura 8. Fluxograma do procedimento para o estudo de adsorção da cafeína nos monolitos.

3.3 Caracterização físico-química das fases monolíticas

3.3.1 Densidade real dos monolitos

A densidade real dos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) foi determinada utilizando um picnômetro a gás Hélio da marca Micromeritics, modelo Accupyc 1331. A sensibilidade de medida do picnômetro a gás utilizado é de 10^{-4} g cm⁻³. Cada amostra, composta por 3 monolitos de mesmas características, foi colocada no equipamento realizando cinco medidas consecutivas e os resultados de densidade levaram em consideração as médias dessas medidas. O método do picnômetro a gás Hélio determina o volume real dos monolitos pela mudança de pressão observada no gás Hélio que se expande de uma câmara contendo a amostra para a outra sem a amostra. Com a massa da amostra já conhecida, determina-se a densidade real do monolito. A densidade determinada por picnômetro é a densidade real, calculada pela razão entre a massa da amostra e o volume que ela ocupa. Essas medidas foram realizadas no Laboratório de Análises Físicas da Faculdade de Engenharia Química da UFU.

3.3.2 Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para a caracterização morfológica dos NIP e MIP do poli(TMPTA-co-EDMA) produzidos neste trabalho. No MEV, um pedaço de cada monolito foi fixado em porta-amostras por uma fita dupla face

de carbono. Em seguida, foram recobertas com uma fina camada de ouro, na qual o metal foi bombardeado com átomos de argônio sob alto vácuo por 120 s, para a formação de uma camada de aproximadamente 10 nm de espessura. Esses suportes foram introduzidos em um microscópio eletrônico de varredura JEOL JMS 6360-LV com microsonda de raios-X. As partes do monolito foram amplificadas entre 500 e 10k vezes, a fim de observar as suas características morfológicas microscópicas. Essas medidas foram realizadas no Laboratório Multiusuário do Instituto de Química da UFU.

3.3.3 Área superficial específica e porosidade

As amostras foram submetidas à determinação da área superficial específica, volume total e diâmetro médio de poros. A área superficial específica foi calculada de acordo com o método BET (Brunauer-Emmett-Teller) a pressões relativas (p/p_0) entre 0,05 e 0,30, na qual p e p_0 são, respectivamente, pressões de equilíbrio e pressão de saturação do nitrogênio a -196 °C. O volume total de poros foi determinado pelo método do ponto único, através da conversão do volume de nitrogênio adsorvido na p/p_0 de aproximadamente 0,995 para o volume do adsorbato líquido. O diâmetro médio dos poros foi calculado a partir dos valores de volume total de poros e da área superficial BET, conforme Equação 3. Esta medida foi realizada no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal (LEMUP).

$$d_p = \frac{4V_p}{S_{BET}} \quad \text{Equação 3}$$

Em que: d_p = diâmetro médio de poros (nm); V_p = volume total de poros ($\text{cm}^3 \text{ g}^{-1}$) e S_{BET} = área superficial específica ($\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$) obtida pelo método BET.

3.3.4 Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica dos monolitos NIP e do MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) foi avaliada por análise termogravimétrica, na qual cerca de 15 mg de amostra foram colocados em uma microbalança no analisador térmico da TA Instruments, modelo TGA 55 e submetidos a um aquecimento na faixa de temperatura de 25 °C a 600 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} . As medidas foram realizadas sob atmosfera inerte, relacionando a perda de massa da amostra com o aumento da temperatura. Esta medida foi realizada no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal da UFU (LEMUP).

3.3.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

Os monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier para avaliar os grupos funcionais característicos dos monômeros presentes nos monolitos e assim confirmar a polimerização. Cerca de 1 mg de monolito foi adicionado no cristal do espectrofotômetro Agilent Technologies modelo Cary 630 FTIR. As medidas foram realizadas na faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e uma taxa de 128 varreduras por minuto. Esta medida foi realizada no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal (LEMUP).

3.4 Otimização da extração da cafeína de amostras de água

Antes de aplicar os monolitos no processo de extração da cafeína é importante ajustar as condições de extração empregando um novo dispositivo que não possui referências na literatura. Assim, foi realizada a otimização do processo de extração empregando os monolitos na ponteira de micropipeta. Foram avaliados 4 parâmetros: solução da amostra, solvente extrator, número de ciclos de sorção da amostras e o número de ciclos do solvente extrator. No estudo de otimização foi utilizado o monolito poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA).

3.4.1 Solução de cafeína a 0,2 mg L⁻¹

Foram avaliadas três condições da amostra para a extração da cafeína: amostra aquosa fortificada com cafeína; amostra de água fortificada com cafeína e 5 % (m/v) de NaCl e amostra de água fortificada com cafeína tamponada em pH 9,0 com acetato de amônio a 0,020 mol L⁻¹. Em cada condição, 1 mL da amostra foi aspirada e expelida 3 vezes pelos monolitos. Após determinar a melhor condição da amostra para extração da cafeína, realizou-se o estudo do número de ciclos de aspiração e expulsão da amostra. Nesta etapa, foi aspirado e expelido 1 mL da amostra fortificada com cafeína pelos monolitos, empregando 1, 2, 3, 4 e 5 ciclos.

Para realizar os estudos, conectou-se a ponteira contendo os monolitos em uma seringa de poli(propileno) de 60 mL. Em seguida, realizou-se o processo de extração

DPX, eluindo a cafeína retida no monolito com 1 mL de água em ciclo único. O estudo foi realizado em triplicata e os extratos foram analisados por HPLC (*High-performance liquid chromatography*). A Figura 9 apresenta um esquema do processo de extração empregado para extração DPX de cafeína pelos monolitos produzidos neste trabalho.

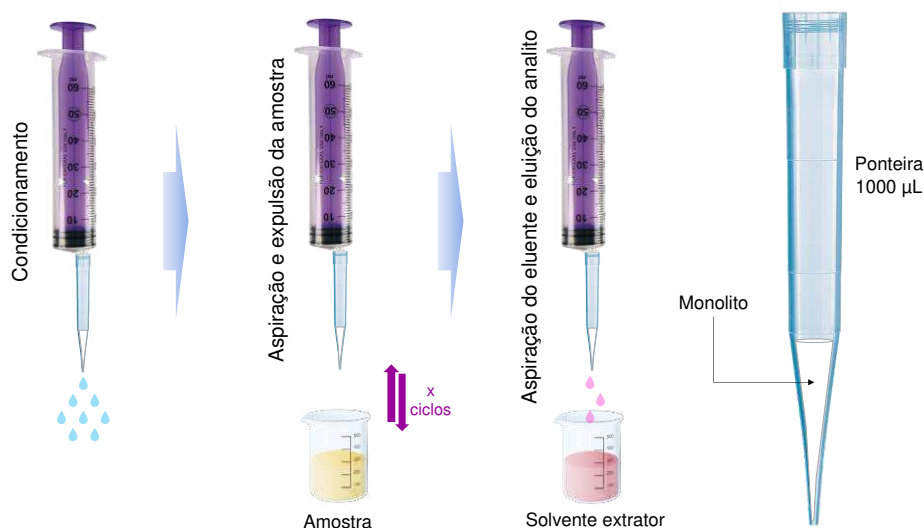


Figura 9. Processo de extração DPX empregando o sorvente monolítico poli(TMPTA-co-MMA-co-EDMA) proposto neste trabalho.

3.4.2 Solvente extrator

O solvente extrator é a variável de maior influência na extração de um analito de um sorvente. Para a extração da cafeína da fase monolítica poli(TMPTA-co-MMA-co-EDMA) foram avaliados cinco solventes como potenciais eluentes da cafeína: metanol, acetonitrila, diclorometano, clorofórmio e metanol contendo 1 % (v/v) ácido acético. Para isso, 1,0 mL de amostra fortificada com cafeína a $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ foi aspirada e expelida pela ponteira contendo o monolito em dois ciclos. Em seguida, 1,00 mL do solvente extrator foi aspirado e expelido três vezes pela ponteira contendo o monolito, sendo o último ciclo expelido para um vial, sendo levado para análise por HPLC.

Após a determinação do solvente extrator de maior eficiência, realizou-se um estudo para determinar o número de ciclos de aspiração/eluição com o solvente. Para isso, o procedimento anterior foi repetido, aspirando e expelindo 1,00 mL do solvente na etapa de eluição 1, 2, 3 e 4 vezes. O extrato obtido após o último ciclo de cada teste foi recolhido em vial e analisado por HPLC.

Nestes estudos, conectou-se a ponteira contendo o monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) em uma seringa de 60 mL (Figura 9). Cada teste foi realizado em triplicata e os extratos foram analisados por HPLC.

3.4.3 Reutilização dos monolitos

Os monolitos empregados na extração prévia da cafeína da amostra aquosa foram avaliados quanto ao seu reuso. Após cada uso, o monolito foi deixado em um béquer com 50 mL de água ultrapura em repouso por 24 h. Após este período, o monolito foi conectado à ponteira de micropipeta que, por sua vez, foi conectada a uma seringa de polipropileno de 60 mL, aspirando e expelindo 1,00 mL de metanol em 1, 2 e 3 ciclos para um vial e analisando os solventes expelidos após cada ciclo por HPLC.

3.5 Aplicabilidade da extração na ponteira com poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)

O monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) foi aplicado na extração de amostras fortificadas com 0,2 mg L⁻¹ de cafeína nas condições otimizadas anteriormente, todas as extrações foram realizadas em triplicata e os extratos analisados por HPLC. Brevemente, 1,0 mL de água ultrapura foi aspirada e expelida pela ponteira contendo o monolito que estava conectada a uma seringa de polipropileno de 60 mL. Esta etapa foi realizada para a ativação dos sítios ativos do monolito. Em seguida, 1,00 mL das amostras fortificadas com cafeína foram aspiradas e expelidas três vezes pela ponteira contendo o monolito, sendo o líquido reservado para análise por HPLC. Os monolitos foram então submetidos à etapa de eluição empregando 1,00 mL de água ultrapura, sendo o processo realizado em três ciclos. O último ciclo de eluente resultou no extrato, que foi dispensado em um vial e analisado por HPLC. Cada extração demorou aproximadamente de 5 a 10 minutos. Três amostras foram avaliadas: água ultrapura, água de torneira (recolhida no laboratório) e água do Ribeirão São Lourenço, Ituiutaba/MG (18° 58' 31.579" S e 49° 25' 11,639" W). O objetivo dessas análises foi avaliar a aplicabilidade do dispositivo para extração de cafeína em amostras de água, antes e após o processo de tratamento na Estação de Tratamento de Água (ETA).

3.5.1 Extração em fase sólida da cafeína de amostras de água

Para efeito de comparação, as amostras de águas fortificadas com cafeína foram extraídas pelo método de extração em fase sólida (SPE). O procedimento SPE foi realizado em triplicata. Em um cartucho SPE adicionou-se aproximadamente 0,2 g de fase sólida C₁₈ Kromasil® com partículas de 16 µm de diâmetro. Em seguida, os cartuchos foram conectados a um *manifold* a vácuo. O processo de extração consistiu (i) no condicionamento dos cartuchos com 2,00 mL de água ultrapura; (ii) passagem de 1,00 mL da amostra de água fortificada com 0,2 mg L⁻¹ de cafeína (o líquido foi reservado e analisado por HPLC após esta etapa); (iii) limpeza do extrato com 1,00 mL de água ultrapura, e; (iv) eluição da cafeína dos cartuchos com 1,00 mL de metanol acidificado a 1 % (v/v) de ácido acético, recolhendo o extrato em um vial de 2,0 mL. Os extratos foram analisados por HPLC.

3.6 Análise cromatográfica

Os extratos da cafeína foram analisados por HPLC empregando o sistema cromatográfico Alliance da Waters, equipado com bomba quaternária e2695, injetor automático, forno para coluna e detector de arranjo de diodos PDA 2998. Foi empregada uma coluna XSelect® HSS de 150 mm × 3,1 mm de diâmetro interno e fase estacionária com partículas de 3,5 µm de diâmetro médio. As condições de análise empregadas foram: fase móvel isocrática MeOH:H₂O (30:70, v/v); vazão de 1,0 mL min⁻¹; detecção UV a 254 nm; volume de injeção de 10 µL e temperatura de forno de coluna de 30 °C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese dos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)

A formação de poros no material monolítico pode ser influenciada por fatores como, o tipo do solvente porogênico, a quantidade do monômero funcional e do agente entrecruzante, a proporção entre os agentes porogênicos e a mistura monomérica, a proporção entre os monômeros e o entrecruzante etc. (SVEC, 2010; SABARUDIN, 2018). Por isso, a fim de se obter um monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) de alta porosidade, com boa permeabilidade de fluidos e estrutura monolítica rígida, moldada no interior da ponteira de micropipeta, buscou-se otimizar as suas condições de polimerização *in situ*. As seguintes condições experimentais foram avaliadas: proporção TMPTA:EDMA, a proporção entre a mistura monomérica (TMPTA+EDMA) e o agente porogênico e o tipo de solvente porogênico. Para determinar a condição ótima da síntese do monolito utilizou-se como resposta a vazão (mL min^{-1}) de água pelo monolito dentro de uma ponteira de 1000 μL . Além disso, também verificou-se a capacidade de eluição de água pelo monolito, empregando apenas a micropipeta manual. O estudo da vazão foi realizado com monolitos obtidos após a extração Soxhlet para a remoção de reagentes não polymerizados e solventes porogênicos.

Como a preparação de monolitos poliméricos orgânicos é inédita em nosso grupo e o material é muito pouco explorado para finalidades de preparo de amostra, este estudo foi iniciado com pouco suporte da literatura. Assim, consultou-se a literatura sobre colunas monolíticas para cromatografia líquida capilar, e iniciou-se a preparação dos monolitos na ponteira partindo de uma condição, monolito #1, de proporção mistura monomérica (TMPTA+EDMA):agente porogênico (MeOH) 50:50 % (m/m), em que a composição da mistura monomérica foi de 50 % (m/m) de TMPTA e 50 % (m/m) de EDMA. Foi empregada para a preparação de todos os monolitos 1 % (v/v) de AIBN. Nessa condição, no entanto, a mistura reacional apresentou uma baixa viscosidade e, após o tratamento térmico, não foi possível observar a formação de uma estrutura monolítica sólida e rígida, conforme se observa na imagem da Figura 10.



Figura 10. Ponteira com produto da polimerização do TMPTA e EDMA na condição experimental #1.

Desta forma, para diminuir a viscosidade do meio reacional, alterou-se a proporção da mistura monomérica:agente porogênico de 50:50 para 30:70 % (m/m), mantendo a proporção 50 % (m/m) de TMPTA e 50 % (m/m) de EDMA na mistura monomérica, denominando o produto dessa reação como monolito #2. Esta nova condição levou à formação do monolito sólido, com estrutura rígida e com formato cônico moldado pela ponteira. Esse resultado indicou que a mistura reacional deve apresentar alta viscosidade para favorecer a polimerização, para isso a quantidade de solvente porogênico deve estar em maior proporção para garantir a solubilidade total dos monômeros (SVEC, 2010; DING *et al.*, 2018).

No teste de passagem de água pelo monolito poli(TMPTA-co-EDMA) #2 foram obtidas vazões de $1,44 \text{ mL min}^{-1}$, porém provavelmente a água eluiu entre o monolito e as paredes da ponteira. Quando conectada à micropipeta manual, a ponteira contendo o monolito não possibilitou a aspiração ou a expulsão de água, provavelmente devido à baixa porosidade do monolito formado.

Como a estrutura sólida e rígida do monolito foi alcançada na proporção de mistura monomérica:metanol 30:70 % (m/m), essa condição foi fixada e para aumentar a porosidade do monolito foi avaliado o efeito da proporção do EDMA e TMPTA na mistura monomérica, com o objetivo de encontrar a condição em que o solvente consiga ser eluído pelo monolito sem a utilização do vácuo. Foram preparados vários conjuntos de monolitos na proporção massa/massa de TMPTA:EDMA 1:2 e 2:1, denominando-os de monolitos #3 e # 4, respectivamente. Nestas condições, a água foi eluída externamente aos monolitos apresentando uma vazão elevada, mas de pouco contato com os sítios ativos dos monolitos #3 e #4 quando acoplados no sistema a vácuo, novamente não sendo possível obter a eluição da água pela ponteira contendo os monolitos empregando a micropipeta manual (Tabela 3).

Tabela 3. Estudo da vazão utilizando um *manifold* a vácuo e eluição de água pelos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) através da micropipeta de 100 a 1000 μL . N = 3.

Monolito	Vazão de água / manifold (mL min^{-1})	Eluição de água / micropipeta
Poli(TMPTA-co-EDMA) #1	-	-
Poli(TMPTA-co-EDMA) #2	1,44*	não
Poli(TMPTA-co-EDMA) #3	2,28*	não
Poli(TMPTA-co-EDMA) #4	3,06*	não
Poli(TMPTA-co-EDMA) #5	0,55	não
Poli(TMPTA-co-EDMA) #6	-	não
Poli(TMPTA-co-EDMA) #7	0,28	sim
Poli(TMPTA-co-EDMA) #8	0,34	sim
Poli(TMPTA-co-EDMA) #9	0,48	sim
Poli(TMPTA-co-EDMA) #10	0,53	sim
Poli(TMPTA-co-EDMA) #11	-	sim
Poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) #12	-	não
Poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) #13	0,55	sim
Poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) #14	-	não

* suspeita de eluição entre as paredes da ponteira e o monolito de poli(TMPTA-co-EDMA).

Provavelmente a composição do monômero e entrecruzante não afeta de forma tão significativa a formação de poros da estrutura do monolito. Assim, os esforços foram direcionados para a avaliação do solvente porogênico. O solvente porogênico permite controlar as propriedades porosas sem alterar a composição química do monolito, tendo em vista que ele controla as propriedades porosas do monolito através das solvatações das cadeias poliméricas durante os estágios iniciais da polimerização, por isso é necessário avaliar diferentes tipos de solventes (SVEC, 2010). Foram avaliados como solventes porogênicos: o hexanol (monolito #5), o octanol (monolito #6) e o isopropanol (monolito #7).

Em todas as situações, substituindo o metanol como solvente porogênico e mantendo a proporção mistura monomérica:porogênico 30:70 % (m/m), foram obtidos monolitos sólidos e rígidos dentro da ponteira da micropipeta. Porém, o único conjunto de monolitos que possibilitou a permeação de líquidos, tanto no sistema a vácuo controlado quanto na micropipeta manual, foi o que empregou o isopropanol como solvente porogênico, o monolito poli(TMPTA-co-EDMA) #7. Provavelmente a cadeia não linear do isopropanol resultou em maior desestabilização da estrutura polimérica durante

a formação do monolito, deixando cavidades mais significativas na estrutura. No entanto, a vazão de água no monolito #7 foi menor que nos monolitos anteriores, empregando o sistema a vácuo. Assim, para aumentar a permeabilidade de líquidos pela estrutura monolítica, fixou-se o isopropanol como solvente porogênico e alterou a proporção TMPTA:EDMA de 1:1 na mistura monomérica para 2:1 e 1:2, monolitos #8 e #9, respectivamente. Nestes dois monolitos, foi possível eluir a água tanto pelo sistema a vácuo do manifold quanto pela micropipeta manualmente, com vazões ligeiramente maiores para o monolito #9. Novamente, a mudança da relação entre monômero funcional TMPTA e o entrecruzante EDMA parece não possuir efeito significativo na estrutura de porosidade do monolito.

A proporção 1:2 de TMPTA:EDMA obtida na condição #9 foi mantida e avaliada a inclusão de um solvente de cadeia curta (água) e outro de cadeia longa (PEG) com o isopropanol formando uma mistura porogênica, monolitos #10 e #11, respectivamente. Nestes dois monolitos foi possível eluir água pela ponteira contendo o monolito empregando a micropipeta manual, porém no sistema a vácuo o monolito #11 não possibilitou a passagem de água, indicando efeito pouco significativo da inclusão de um pequeno volume de PEG ou de água na mistura porogênica. Como os monolitos #9 e #10 apresentaram vazões similares de água a vácuo e pela micropipeta, foram definidas como condições ótimas de polimerização as condições de obtenção do monolito #9, por incluir apenas o isopropanol como agente porogênico. Assim, a condição otimizada de produção do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) consistiu em 10 % (m/m) de TMPTA, 20 % (m/m) de EDMA e 70 % (m/m) de isopropanol termopolimerizados a 60 °C por 20 h.

Após estudos de retenção com a cafeína, verificou-se uma baixa retenção do analito no monolito de poli(TMPTA-co-EDMA), provavelmente devido a natureza hidrofílica da cafeína e as características mais hidrofóbicas do monolito. Assim, avaliou-se a inclusão de um monômero com grupos carboxílicos (ácido metacrílico – MAA) para fornecer maior polaridade ao monolito, incluindo o MAA na mistura monomérica.

No entanto, a inclusão do MAA na mistura monomérica não afetou a relação entre o monômero estrutural e o agente de entrecruzamento, ou seja, a quantidade de MAA adicionada foi proporcional à quantidade de TMPTA retirada da mistura monomérica. Assim, as novas preparações avaliadas consistiram na proporção TMPTA e MAA na mistura monomérica para 3:1; 1:1 e 1:3, monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) #12, #13, #14, respectivamente. Nestas preparações, foi possível eluir a água pela ponteira contendo apenas o monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) #13, indicando

uma influência na proporção de TMPTA e MAA na mistura reacional. Assim, a condição otimizada de produção do monolito de poli(TMPTA-*co*-MAA-*co*-EDMA) consistiu em 5 % (m/m) de TMPTA, 5 % d(m/m) de MAA, 20 % (m/m) de EDMA e 70 % (m/m) de isopropanol termopolimerizados a 60 °C por 20 h.

A Figura 11 apresenta imagens reais do monolito de poli(TMPTA-*co*-EDMA) #9 dentro e fora da ponteira de micropipeta.



Figura 11. Monolito de poli(TMPTA-*co*-EDMA) nas condições otimizadas de polimerização *in situ*.

4.1.1 Remoção de resíduos de reagentes das fases monolíticas

A remoção dos resíduos não polimerizados da mistura reacional foi otimizada empregando a extração Soxhlet e avaliando diferentes solventes extratores. Foram avaliados a água, o metanol, a acetonitrila e a acetona como solventes de extração de resíduos. A escolha do melhor solvente se deu através da medida da permeabilidade de líquidos nos monolitos extraídos e pela aparência física do monolito após a extração. A Tabela 4 registra os resultados obtidos da avaliação do solvente extrator na remoção dos resíduos de reagentes pós-polimerização.

Tabela 4. Vazão e degradação dos monolitos na remoção de resíduos pós-polimerização dos monolitos poli(TMPTA-*co*-EDMA).

Solvente extrator	Vazão de água (mL min ⁻¹)	Degradação do monolito
Acetona*	-	Sim
Acetonitrila*	-	Sim
Água	1,56	Não
Metanol	0,84	Não

* O monolito se tornou quebradiço e não foi possível realizar a medida

A acetona e a acetonitrila tornaram os monolitos quebradiços (Figura 12) após o processo de extração, não sendo mais possível a utilização dos mesmos como sorvente, sendo descartados. Por outro lado, tanto o metanol como a água foram eficientes no processo de extração, mantendo a estrutura física dos monolitos intacta, bem como melhorando a permeabilidade de líquidos. A água foi mais eficiente na remoção, possibilitando um aumento de 3x na permeabilidade do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA), conforme indicado na Tabela 4.

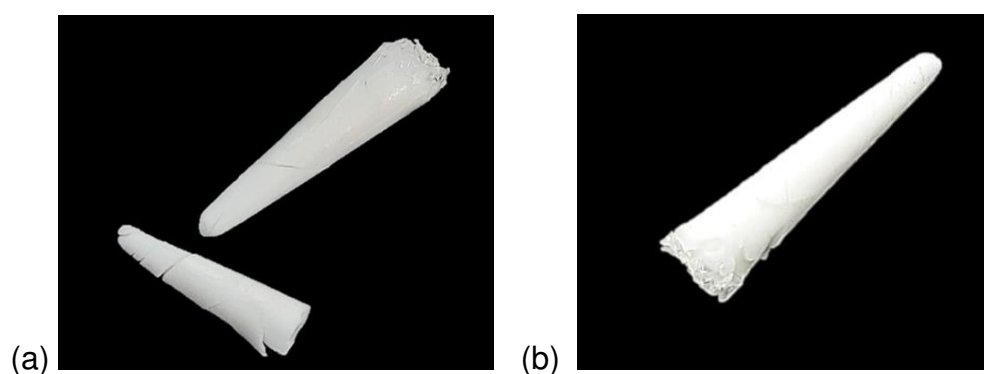


Figura 12. Monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) após a extração Soxhlet com (a) acetona e (b) acetonitrila.

4.2 Síntese do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) impresso com cafeína

Após a otimização das condições de polimerização do monolito, obtendo uma estrutura rígida, sólida e que possibilita a permeação de líquidos usando apenas a micropipeta manual, foi realizada a impressão molecular da cafeína para fornecer seletividade à estrutura monolítica de poli(TMPTA-co-EDMA). O monolito otimizado anteriormente, sem a impressão molecular, será denominado a partir daqui como NIP (*non-imprinted polymer*) do poli(TMPTA-co-EDMA). Para a síntese do MIP do poli(TMPTA-co-EDMA) foram avaliadas três concentrações de cafeína 0,01; 0,10 e 0,25 mol L⁻¹, correspondendo, respectivamente, a 2,068 mg, 20,68 mg e 51,70 mg de cafeína dissolvida no agente porogênico, o isopropanol. As condições de impressão escolhidas foram baseadas nas preparações de MIPs da literatura (SUN *et al.*, 2006; FARRINGTON *et al.*, 2006; BETLEM *et al.*, 2019).

Observou-se que a condição de 0,10 e 0,25 mol L⁻¹ não apresentaram bons resultados para a estrutura monolítica, não sendo possível obter a estrutura sólida e

rígida após o período de termopolimerização. Na concentração de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ a cafeína decantou na ponta das ponteiras antes do processo de polimerização e a $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ o monólito apresentou separação de fases após o período de polimerização *in situ*, resultando em um material nitidamente inadequado para a finalidade pretendida (Figura 13).

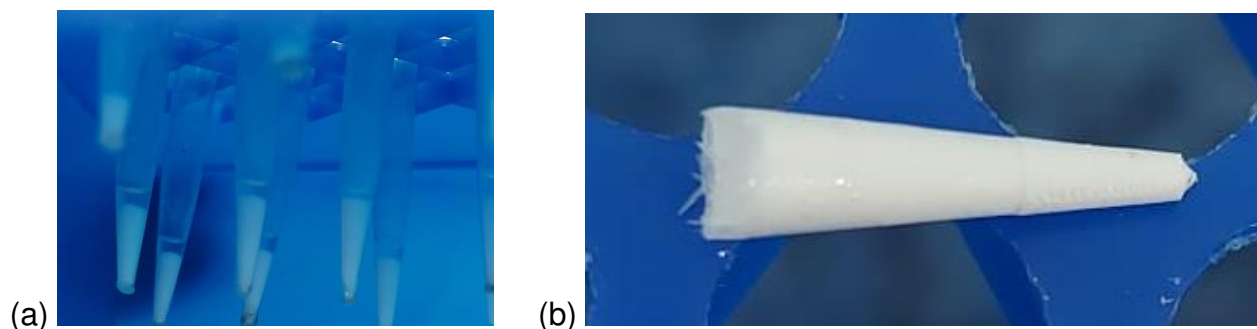


Figura 13. Monólitos de poli(TMPTA-co-EDMA) impressos molecularmente com cafeína a (a) $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e a (b) $0,25 \text{ mol L}^{-1}$.

Estes resultados são indicativos de deposição da cafeína sólida em ambos os casos, mostrando que essas concentrações são muito elevadas para serem adicionadas à mistura reacional para síntese dos monólitos. A uma concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a cafeína se solubilizou adequadamente na mistura reacional e nenhuma alteração física foi perceptível na estrutura monolítica após o processo de polimerização. Assim, essa concentração de cafeína foi empregada para o estudo de impressão molecular.

A remoção da molécula modelo (cafeína) da estrutura monolítica do poli(TMPTA-co-EDMA) foi realizada por extração Soxhlet, avaliando o metanol e a água como solventes extratores. A escolha desses solventes se deu pelos resultados positivos alcançados na remoção dos resíduos da mistura reacional e pela cafeína possuir uma alta solubilidade em ambos. A remoção da cafeína foi monitorada pela análise espectrofotométrica do extrato (Figura 14) no comprimento de onda de 274 nm .

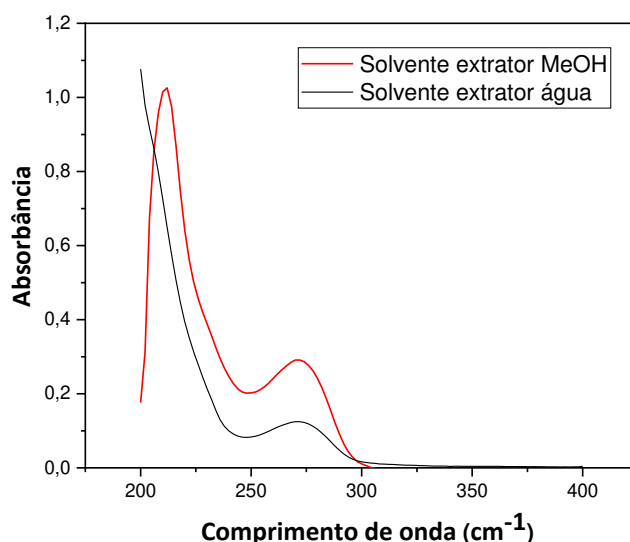


Figura 14. Espectro de absorção molecular na região do ultravioleta do solvente de extração após a extração da molécula modelo (cafeína) na impressão molecular do poli(TMPTA-co-EDMA).

A determinação do melhor solvente extrator para retirar a molécula molde do monolito foi obtida da quantificação de cafeína extraída no solvente por espectroscopia de absorção molecular no UV-vis. Primeiramente, foi construída uma curva analítica a partir de soluções aquosas de cafeína na faixa de 0,05 a 5,00 mg L⁻¹, Figura 15, para a quantificação da cafeína, molécula molde extraída dos monolitos.

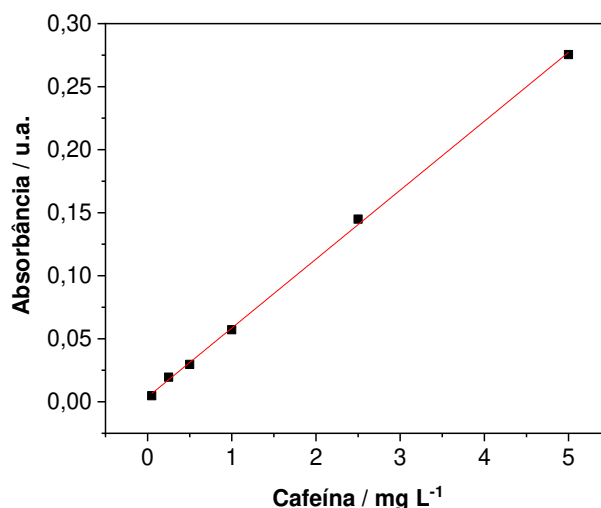


Figura 15. Curva analítica de soluções aquosas de cafeína em $\lambda = 274$ nm.

A curva analítica para a cafeína, após a regressão linear dos dados, apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,99922, e a equação de reta: $A = 0,05469 \cdot [\text{cafeína}] + 0,0038$. A partir da análise espectrofotométrica no comprimento de onda de

274 nm obteve-se uma absorbância de 0,33691 para o solvente metanol e 0,12256 para a água, consequentemente obtendo-se uma concentração de 6,1 mg L⁻¹ e 2,2 mg L⁻¹ de cafeína empregando o metanol e a água, respectivamente, como solventes extratores. Desta forma, o metanol extraiu mais moléculas de cafeína do monolito do que a água. Logo, o metanol foi escolhido como solvente para extração da molécula molde dos MIP de poli(TMPTA-co-EDMA).

4.3 Caracterização morfológica e estrutural das fases monolíticas

4.3.1 Grau de inchamento

Uma das maiores limitações dos monolitos poliméricos orgânicos é o inchamento e/ou compressão da sua estrutura na presença de solventes orgânicos. Para avaliar o grau de inchamento dos monolitos, estes foram deixados em contato com água e metanol (principais solventes empregados na extração proposta deste trabalho) sendo medida inicialmente a massa do monolito seco e, periodicamente, após o contato com cada um dos solventes. A Figura 16 apresenta os gráficos da massa do monolito inchado em função do tempo para os NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA).

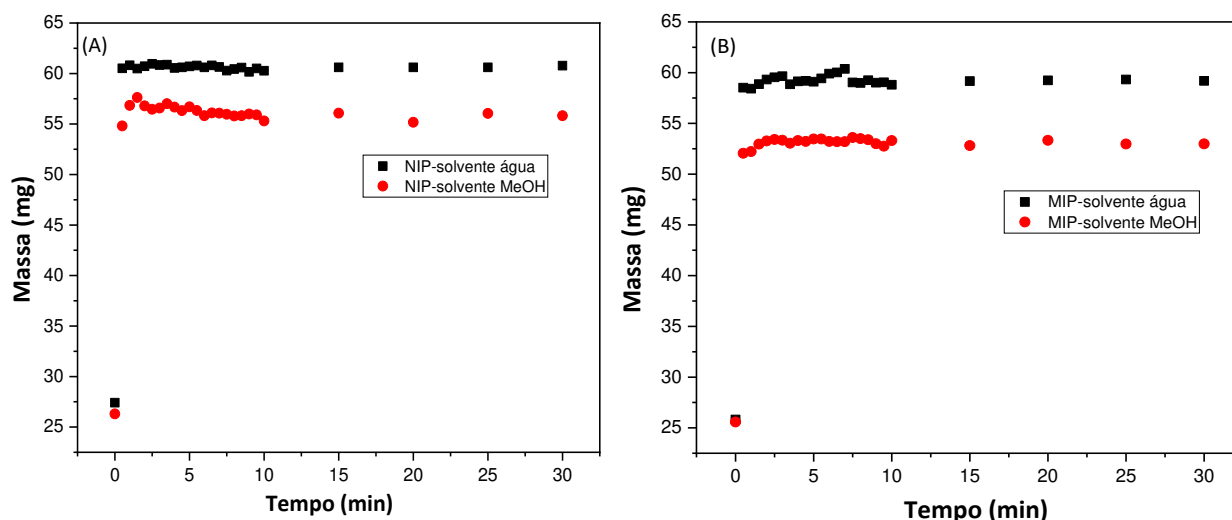


Figura 16. Variação da massa do monolito em função do tempo de contato com água e metanol para (A) NIP e (B) MIP de poli(TMPTA-co-EDMA).

A partir da Figura 16 determinou-se a massa do monolito, após o alcance do equilíbrio em contato com a água/metanol. O valor médio da massa do monolito no

equilíbrio foi substituído na Equação 1 (pág. 29) e obteve-se o grau de inchamento do monolito. Os resultados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Grau de inchamento dos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) após contato com água e metanol.

Monolitos poli(TMPTA-co-EDMA)	Massa do monolito seco (mg) - água	Massa do monolito seco (mg) - MeOH	Massa do monolito inchado no equilíbrio (mg) - água	Massa do monolito inchado no equilíbrio (mg) - MeOH	Grau de inchamento (%) - água	Grau de inchamento (%) - MeOH
NIP	27,405	26,300	60,515	56,795	120,8	115,9
MIP	25,825	25,585	58,515	53,275	126,6	108,2

Através dos dados da Tabela 5 e da Figura 16 observou-se que o monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) inchado entra no equilíbrio rapidamente, indicando que o monolito não participa do modelo viscoelástico, isto é, ele não possui resistência à permeação dos solventes. Além disso, os monolitos MIP e NIP de poli(TMPTA-co-EDMA) apresentam estruturas porosas nas quais os solventes passam rapidamente para o interior do monolito ocupando os poros e aumentando a sua massa proporcionalmente à porosidade (OMIDIAN *et al.*, 1998). Observou-se também que houve um inchamento acima de 100 % para o NIP e o MIP, mostrando que além da permeação dos solventes há uma expansão da estrutura do monolito. Porém, o inchamento em água foi maior do que em metanol, e maior para o MIP, indicando diferenças entre os monolitos impresso e não impresso.

O fato de o monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) sofrer um inchaço quando entra em contato com o solvente informa que é importante o monolito não estar totalmente seco ao iniciar o processo de extração (aspiração da amostra e dos solventes). Caso isso ocorra, poderia ocorrer uma obstrução dos poros devido a compressão do monolito contra as paredes da ponteira, bloqueando a permeação de líquidos. Desta forma, após a produção os monolitos foram sempre mantidos em água até o momento do uso.

4.3.2 Porosidade total das fases monolíticas

Para a determinação da porosidade total dos monolitos foi inicialmente determinada a densidade real do poli(TMPTA-co-EDMA) no formato da ponta da ponteira (como empregado no processo de extração), obtendo-se um valor de $0,9921 \pm 0,0021$ g cm⁻³ pelo método do picnômetro a gás Hélio. A porosidade total foi medida pelo método de saturação de fluidos, no qual os monolitos secos foram colocados em contato com um

solvente de saturação, o n-butanol, escolhido por não expandir/comprimir a estrutura monolítica dos materiais. Periodicamente, os monolitos eram retirados do n-butanol, o excesso de n-butanol era removido com papel toalha, e pesados em balança, retornando em seguida para o contato com o n-butanol. Analisou-se a variação de massa do material em relação ao tempo e, com o auxílio da Equação 2 (pág. 29), obteve-se a porosidade total dos monolitos, Figura 17.

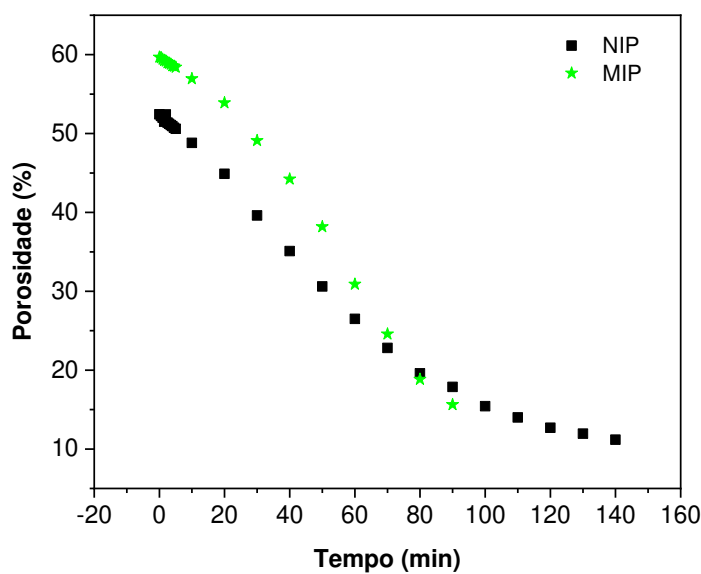


Figura 17. Variação da porosidade (%) do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) em função do tempo.

Pode-se observar que antes de ocorrer a diminuição da porosidade, o monolito atingiu o máximo da intrusão de n-butanol, indicativo da porosidade dos monolitos. Enquanto o poli(TMPTA-co-EDMA) sem impressão, NIP, apresentou uma porcentagem de porosidade de 52 %, a contraparte MIP apresentou 59 % de porosidade total. Esse resultado já era esperado, uma vez que o MIP deve apresentar mais poros devido às cavidades adicionais na estrutura monolítica deixadas pela molécula molde de cafeína.

4.3.3 Área superficial específica e porosidade

Os monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) sem e com impressão molecular de cafeína e do poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) foram analisados quanto às suas características de área superficial específica e porosidade a fim de caracterizar as propriedades morfológicas destes monolitos. A área superficial foi obtida pelo método BET e o volume de poros pelo método BJH (Barrett-Joyner-Halenda), em que as

propriedades são avaliadas através da adsorção e dessorção de gás N₂ nos poros e superfície do material dentro de uma faixa de pressões relativas. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6. Propriedades morfológicas dos monolitos NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA).

Monolitos	Área superficial específica (m ² g ⁻¹)	Volume total de poros (cm ³ g ⁻¹)	Diâmetro médio de poros (nm)
Poli(TMPTA-co-EDMA)	64,97	0,166	10,2
MIP poli(TMPTA-co-EDMA)	134,67	0,413	12,3
Poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)	81,27	0,307	15,1

Os resultados da Tabela 6 mostram que tanto o poli(TMPTA-co-EDMA) quanto o poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) apresentam características que permitem considerá-los como sorventes mesoporosos (d_p entre 2 e 50 nm) com elevada porosidade, uma vez que apresentam um volume total de poros relativamente grande (Thommes *et al.*, 2015). Os monolitos também apresentaram elevada área superficial específica, em função da elevada porosidade do material. Quando comparados os resultados do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) não impresso com o MIP do poli(TMPTA-co-EDMA), observou-se um aumento acima de 100 % da área superficial e do volume total de poros com a impressão molecular. A área superficial do monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) aumentou com a inserção do ácido metacrílico quando comparado ao monolito equivalente de poli(TMPTA-co-EDMA). O diâmetro médio de poros do MIP teve um aumento de cerca de 20 %, provavelmente em função da abertura dos poros provocadas pela molécula da cafeína no processo de impressão molecular, comparado ao monolito sem impressão, enquanto o poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) apresentou um aumento ainda maior com a inserção do MAA na estrutura monolítica.

As propriedades de poros e área superficial específica dos monolitos foram obtidas a partir da adsorção de gás nitrogênio nos monolitos. A Figura 18 apresenta os perfis das isotermas nos monolitos NIP, MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e do poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA).

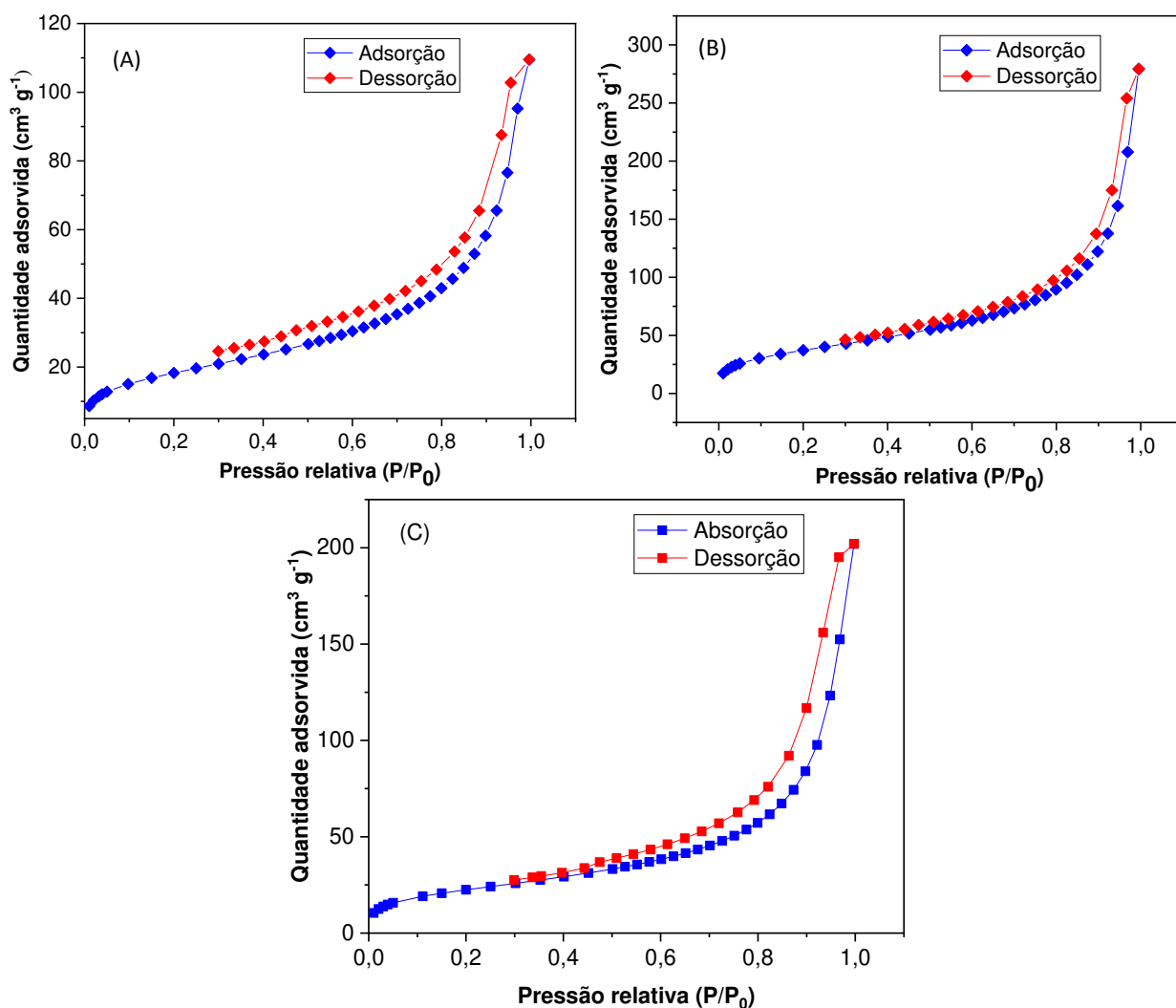


Figura 18. Isothermas de adsorção e dessorção de gás N₂ nos monolitos (A) NIP, (B) MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e (C) poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA).

O perfil das isothermas obtidas pelos monolitos é do tipo IV de acordo com a classificação da IUPAC (SING, 1982) e apresenta uma pequena histerese (diferença entre os processos de adsorção e dessorção do N₂ nos monolitos). Nas isothermas do tipo IV observam-se distintos processos de adsorção e dessorção de N₂ na superfície e poros do monolito. Esse tipo de isoterma é característica de materiais mesoporosos, com diâmetro médio entre 2 e 50 nm, corroborando com os resultados apresentados na Tabela 6. A não sobreposição dos processos de adsorção e dessorção caracteriza uma histerese do tipo H1 (SING, 1982), frequentemente associada a materiais porosos consistindo em aglomerados esféricos aproximadamente uniformes em arranjos bastante regulares. A diferença de amplitude da histerese do NIP para MIP e do NIP para o poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) não caracteriza necessariamente uma ausência ou diminuição de poros, apenas a ocorrência de uma alteração no processo de dessorção

do gás nos poros. (TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2001; GILES *et al.*, 1960; THOMMES *et al.*, 2015).

4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura fornece importantes informações sobre a morfologia dos monolitos e cavidades que permitam a permeabilidade de líquidos, essenciais para as aplicações pretendidas. As micrografias dos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA), NIP e MIP, estão apresentadas na Figura 19.

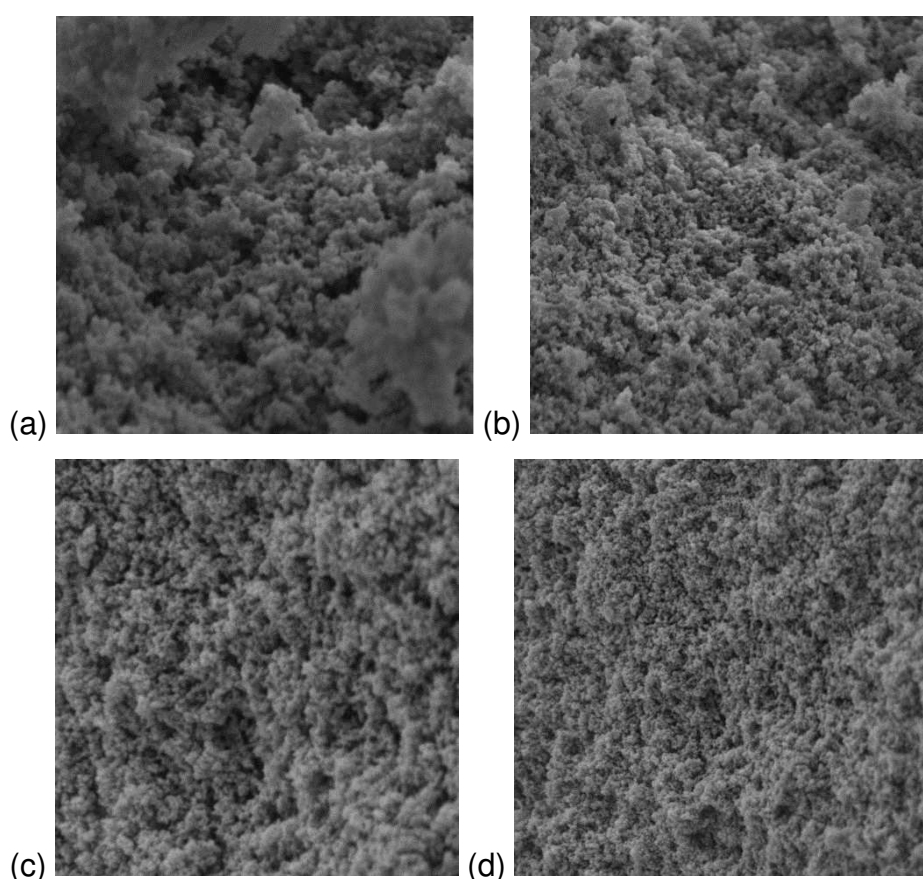


Figura 19. Micrografias dos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) (A) NIP 20kx;(B) NIP 10kx; (C) MIP 20kx;(D) MIP 10kx.

Pelas micrografias da Figura 19 observa-se que os monolitos apresentam uma superfície não uniforme com núcleos sólidos globulares e cavidades entre os glóbulos sólidos, que correspondem aos macroporos da sua estrutura. Esta macroporosidade, provavelmente interconectada, é que possibilita a permeabilidade de líquidos pela estrutura monolítica observada nos testes de permeabilidade de líquidos. Além disso, observou-se também que o NIP e MIP se assemelham, que é um bom indício que a

estrutura monolítica não é alterada significativamente com a inclusão da molécula molde de cafeína durante o processo de polimerização *in situ* na concentração avaliada.

4.3.5 Análise termogravimétrica

O perfil termogravimétrico dos NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) foi avaliado por análise termogravimétrica (TGA, *thermogravimetric analysis*) e comparado com o TMPTA e EDMA puro. O objetivo dessa medida foi avaliar a estabilidade térmica dos monolitos e a presença de resíduos de monômeros na estrutura monolítica. As curvas TG obtidas para o NIP, MIP, TMPTA e EDMA estão apresentados na Figura 20.

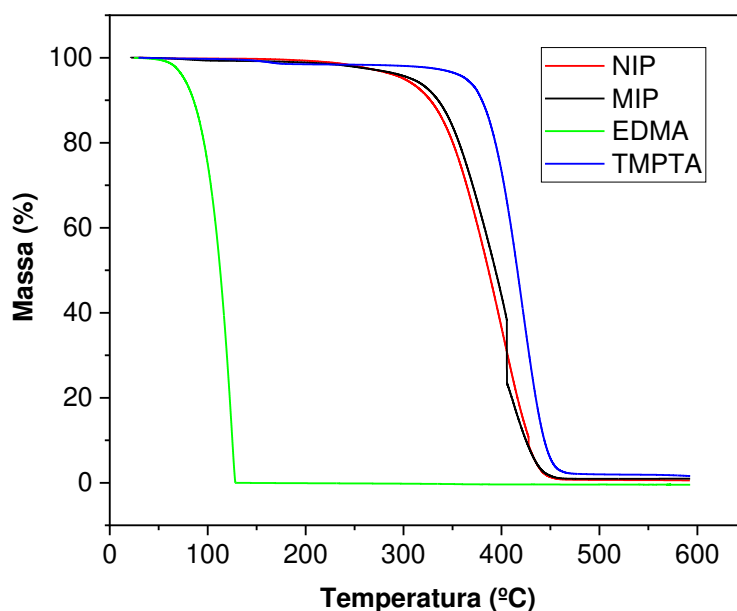


Figura 20. Curvas TG para os monolitos NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e para os monômeros TMPTA e EDMA.

As curvas TG para os monômeros e polímeros apresentaram apenas um único evento térmico na faixa de temperatura analisada, correspondente à decomposição térmica dos compostos, resultando na decomposição total dos materiais por volta de 450 °C. As temperaturas T_{onset} foram obtidas utilizando as ferramentas do software do equipamento, Trios versão 5.1.1 da TA instruments, e estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7. T_{onset} do poli(TMPTA-co-EDMA) NIP e MIP e dos monômeros de TMPTA e EDMA extraídas das curvas TG dos materiais e reagentes.

Material	T_{onset} (°C)
NIP	339,61
MIP	341,32
TMPTA	386,04
EDMA	94,06

De acordo com a Figura 20 e a Tabela 7 observou-se que os monolitos poliméricos NIP e MIP e o monômero TMPTA apresentam uma elevada estabilidade térmica (339-386 °C), enquanto o monômero de entrecruzamento EDMA possui uma estabilidade térmica inferior (~94 °C). A polimerização do TMPTA e EDMA para formar o monolito poli(TMPTA-co-EDMA) permitiu que tanto o NIP quanto o MIP apresentassem estabilidade térmica menor que a do TMPTA, porém bem maior que a do EDMA, sendo uma forte evidência da formação de uma estrutura monolítica polimérica altamente regular, sem a presença de resíduos dos monômeros.

4.3.6 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

As estruturas químicas dos monolitos foram analisadas por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, *Fourier transform infrared spectroscopy*) a partir da caracterização dos principais grupos funcionais dos monômeros presentes nos materiais monolíticos. A Figura 21 apresenta os espectros FTIR dos monolitos NIP, MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA).

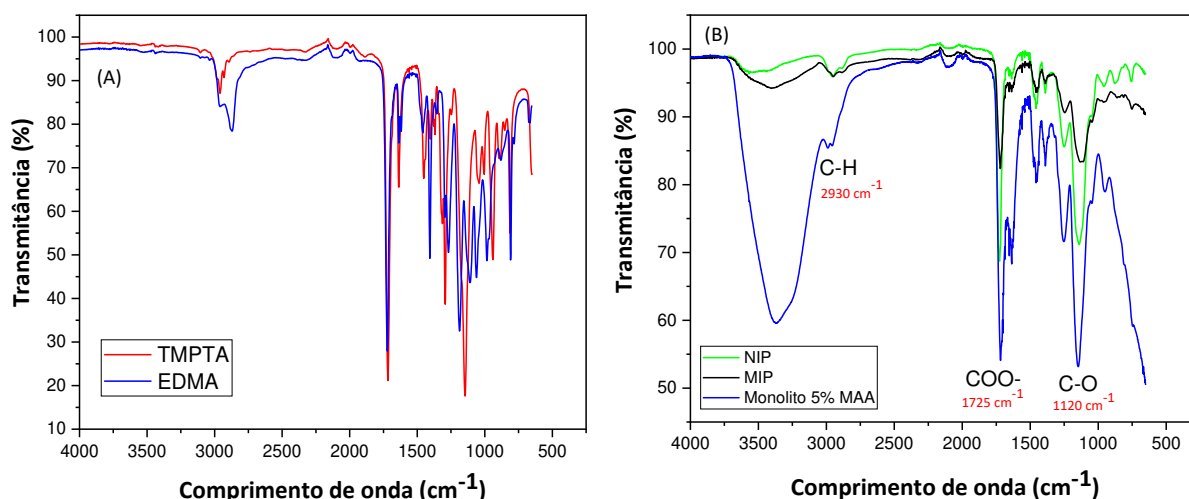


Figura 21. Espectro FTIR para (A) os monômeros TMPTA e EDMA e para (B) os monolitos NIP, MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA).

De acordo com a Figura 21, foi possível identificar grupos funcionais presentes nos monolitos NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) provenientes dos monômeros de partida (TMPTA e EDMA). Os sinais em 1725 cm^{-1} e 1120 cm^{-1} são característicos dos estiramentos -COO- e C-O, respectivamente, presentes nos monômeros TMPTA e EDMA. A região de $1500\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ apresenta alargamento de todos os picos e bandas nos espectros dos monolitos (Figura 21B) em comparação com o espectro dos monômeros (Figura 21A). Esta é uma outra evidência da polimerização do TMPTA e EDMA, resultando em um espectro do polímero que registra uma somatória de vibrações de estiramentos das unidades monoméricas alargando os sinais. Outra evidência da polimerização é o desaparecimento do pico em 1635 cm^{-1} no espectro dos monolitos, o sinal desta região é atribuído à vibração de estiramento da ligação C=C, existente nos monômeros, uma vez que as duplas ligações entre carbonos são rompidas no processo radicalar para efetivar ligação entre as moléculas dos monômeros durante a polimerização. Observa-se ainda, que houve um aumento na intensidade do sinal em 3400 cm^{-1} no espectro do poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA), uma evidência que o monolito com MAA absorveu uma quantidade maior de água, e consequentemente, aumentou a polaridade do monolito.

4.4 Capacidade adsortiva das fases monolíticas

A determinação da capacidade adsortiva dos monolitos NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) foi realizada pelo contato com uma solução padrão aquosa de cafeína a 0,5

mg L⁻¹. A concentração da cafeína em solução foi medida periodicamente por espectroscopia UV-vis em 274 nm para avaliar a quantidade adsorvida nos monolitos. Inicialmente, foi construída uma curva analítica a partir de soluções aquosas de cafeína na faixa de 0,05 a 5,00 mg L⁻¹, Figura 22, para a quantificação da cafeína que não foi adsorvida pelos monolitos em solução.

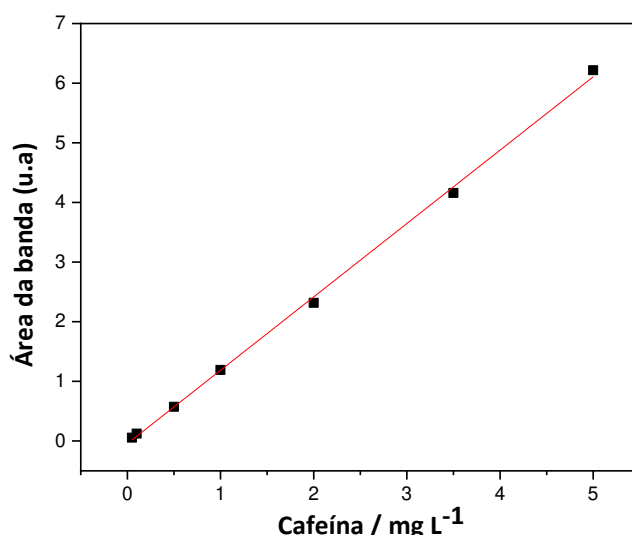


Figura 22. Curva analítica para quantificação espectrofotométrica de soluções aquosas da cafeína em 274 nm.

A curva analítica para a cafeína, após a regressão linear dos dados, apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9986, e a equação de reta: $A_R = 1,23 \cdot [\text{cafeína}] - 0,04373$. O tempo de equilíbrio para a adsorção da cafeína nos monolitos NIP e MIP foi determinado a partir de medidas da absorbância da solução de cafeína periodicamente após o contato com os monolitos. O equilíbrio foi alcançado em ambos os monolitos NIP e MIP com 15 min como pode ser observado na Figura 23. No entanto, no MIP a cafeína parece continuar adsorvendo lentamente após os 15 min iniciais de adsorção rápida, provavelmente, devido à interações com sítios internos da estrutura monolítica à medida que moléculas da cafeína lentamente se movimentavam pelos poros do material. No processo estático de interação o equilíbrio é alcançado lentamente, porém considerando que os monolitos serão aplicados em processos de extração em fluxo contínuo, como na DPX, o tempo necessário para atingir o equilíbrio das moléculas de cafeína com os sorventes tenderá a ser mais curto.

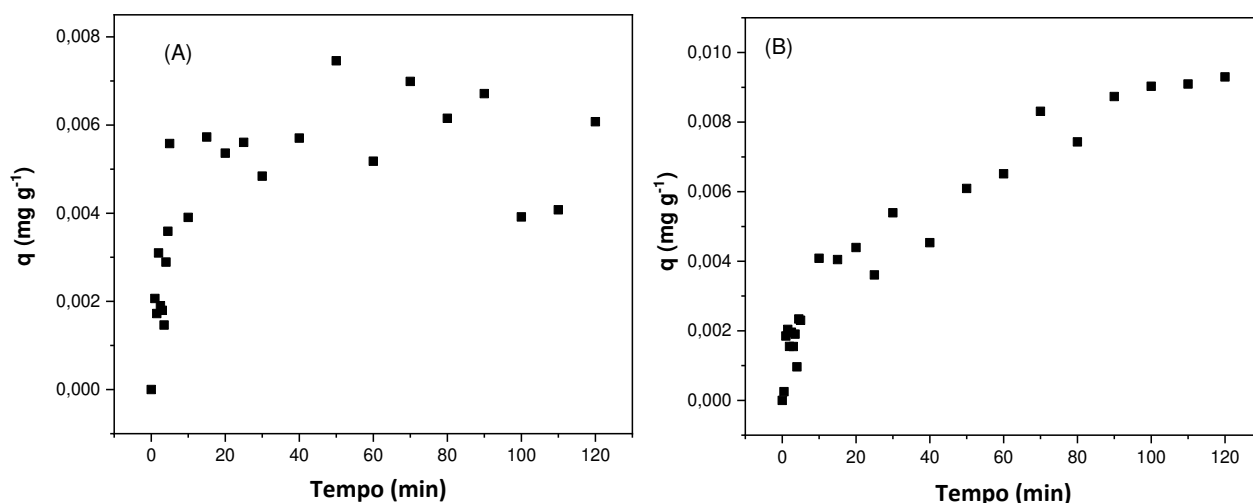


Figura 23. Tempo de equilíbrio para adsorção de cafeína nos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) (A) NIP e (B) MIP.

Através dos gráficos da Figura 23 observou-se que a quantidade de cafeína adsorvida no MIP no equilíbrio foi de aproximadamente $0,0090 \text{ mg g}^{-1}$ enquanto no NIP foi de aproximadamente $0,0057 \text{ mg g}^{-1}$, mostrando que o MIP adsorveu 37% mais cafeína que o NIP. Esta condição era esperada uma vez que no MIP há a presença de sítios ativos deixados pela cafeína no processo de impressão molecular.

Considerando o tempo necessário para que o equilíbrio de adsorção da cafeína nos monolitos seja alcançado de 15 min, foi realizado um estudo de adsorção nos monolitos NIP e MIP variando a concentração da solução de cafeína. Foram avaliadas a adsorção de cafeína nos monolitos em 10 concentrações diferentes na faixa de $0,05$ a $5,00 \text{ mg L}^{-1}$. Em cada solução foi utilizado um monolito, MIP ou NIP, deixado em contato por 15 minutos o NIP e 100 min o MIP e, em seguida, foi medida a absorbância da solução de cafeína. A relação entre as concentrações da cafeína em solução no equilíbrio (C_e) e a quantidade de cafeína adsorvida nos monolitos (q_e) foi avaliada graficamente a partir da equação linearizada de Langmuir (Equação 4) (LEANDRO-SILVA *et al.*, 2020).

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K \times Q_{\max}} + \frac{C_e}{Q_{\max}} \quad \text{Equação 4}$$

Em que: C_e = concentração no equilíbrio (mg L^{-1}); q_e = quantidade de cafeína adsorvida no equilíbrio (mg g^{-1}); K = constante de Langmuir (L g^{-1}); $Q_{\max}$ = quantidade máxima de absorção.

As isotermas de adsorção da cafeína nos monolitos NIP e MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) são mostradas na Figura 24.

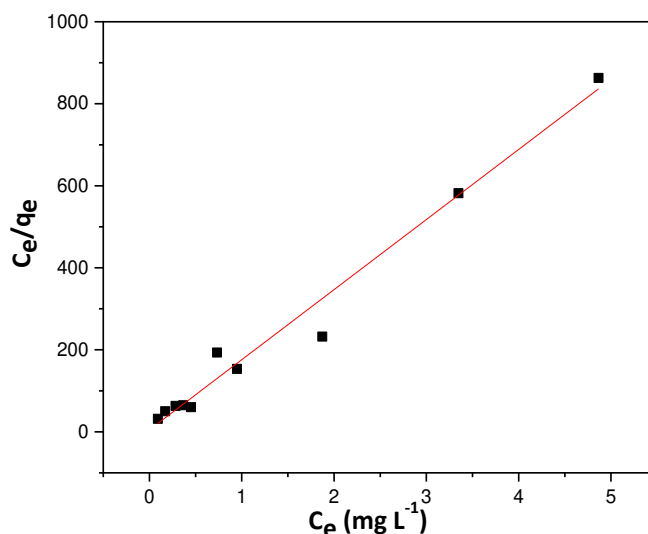


Figura 24. Isotherma de adsorção da cafeína no monolito NIP de poli(TMPTA-co-EDMA), obtida a partir do modelo linearizado de Langmuir.

A partir da isoterma de adsorção na Figura 24 foi realizada uma regressão linear dos dados e obteve-se a Equação 5 com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9762.

$$\frac{C_e}{q_e} = 4,86439 + 170,9342 \times C_e \quad \text{Equação 5}$$

Ao comparar o R^2 obtido com os valores de R^2 para estudo de isotermas, observou-se que R^2 obtido é alto, é um indício que o processo de adsorção da cafeína no NIP se ajustou adequadamente ao modelo linearizado de Langmuir (quanto mais próximo de 1 o valor do coeficiente de determinação, melhor foi o ajuste do modelo aos dados experimentais). O modelo de adsorção ajustado indica que no NIP ocorre um número definido de interações da cafeína com os sítios ativos e que eles possuem energia equivalente para apenas uma molécula ser adsorvida, ou seja, o processo de adsorção ocorre na forma de monocamadas (SOUZA *et al.*, 2007; DOTTO *et al.*, 2011, LEANDRO-SILVA *et al.*, 2020).

Com o auxílio das Equações 4 e 5 determinou-se o $Q_{\max}$ teórico é 0,0058 mg g⁻¹, que é a capacidade máxima de adsorção da cafeína no poli(TMPTA-co-EDMA) NIP. Contudo, o valor de $Q_{\max}$ teórico difere ligeiramente da quantidade adsorvida da cafeína experimentalmente (0,0086 mg g⁻¹). Esse valor de capacidade de retenção é relativamente baixo, o que era esperado já que o NIP não possui sítios ativos deixados pela cafeína durante o processo de polimerização. É possível determinar pelo modelo de

Langmuir se a adsorção do soluto no sorvente é favorável ou desfavorável segundo o fator de separação R_L (Equação 6).

$$R_L = \frac{1}{1+(K \times C_{inicial})} \quad \text{Equação 6}$$

Com o auxílio da Equação 6 determinou-se que o R_L variou entre 0,2365 e 0,0058 mostrando que o processo de adsorção é favorável (DOTTO *et al.*, 2011; LEANDRO-SILVA *et al.*, 2020). O monolito MIP não foi bem ajustado para o modelo de Langmuir. Sendo assim, testou-se o modelo linearizado de adsorção de Freundlich (Equação 7), relacionando a concentração de cafeína na solução em equilíbrio (C_e) e a quantidade adsorvida nos monolitos MIP (q_e) e aplicação o modelo de Freundlich, conforme mostrado na Figura 25 (LEANDRO-SILVA *et al.*, 2020).

$$\log q_e = \log k_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Equação 7}$$

Em que: C_e = concentração no equilíbrio (mg L^{-1}); q_e = quantidade adsorvida no equilíbrio (mg g^{-1}); K_F = constante de capacidade de adsorção de Freundlich (mg g^{-1}); n = coeficiente de Freundlich.

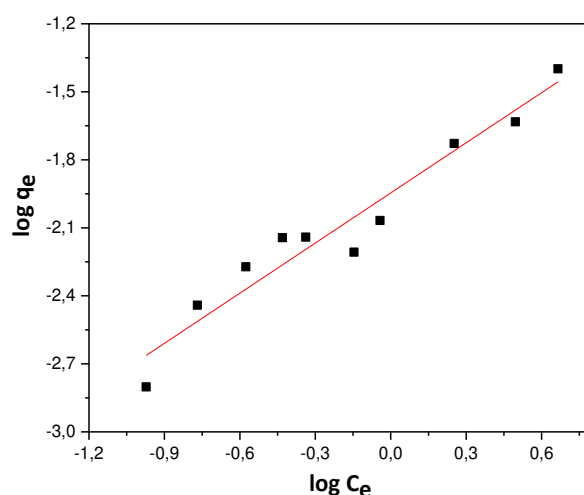


Figura 25. Isoterma de adsorção da cafeína no monolito MIP de poli(TMPTA-co-EDMA), obtida a partir do modelo linearizado de Freundlich.

A partir dos dados da isoterma de adsorção da cafeína no MIP (Figura 25), foi aplicada a regressão linear aos dados, obtendo-se o modelo da Equação 8 com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9324.

$$\log q_e = 0,73692 \times \log C_e - 1,94612$$

Equação 8

Considerando o estudo de adsorção, observou-se que o R^2 possui um alto valor, indicando que os dados experimentais se ajustaram bem ao modelo linearizado de Freundlich, que explica bem o comportamento da adsorção da cafeína no MIP, ou seja, a adsorção não ocorre na forma de uma monocamada na superfície do adsorvente, pressupõe-se que nesse modelo o q_e aumenta à medida em que C_e aumenta. A partir das Equações 7 e 8 determinou-se que o valor de n foi de 1,35, indicando uma adsorção favorável da cafeína no monolito MIP e o do K_F foi $0,011 \text{ mg g}^{-1}$. Devido à falta de parâmetro para determinar a capacidade máxima de adsorção no modelo de Freundlich, relaciona-se a constante de capacidade de adsorção de Freundlich (K_F) com a quantidade adsorvida experimentalmente. Ao realizar essa comparação observou-se que a quantidade adsorvida de cafeína experimentalmente ($0,036 \text{ mg g}^{-1}$) foi maior que o K_F (OLSEN, WARANABE, 1957). O coeficiente de Freundlich é um parâmetro utilizado para determinar se a adsorção é favorável ($1 < n < 10$) ou desfavorável ($n < 1$), logo a adsorção da cafeína pelo MIP é favorável (LEANDRO-SILVA *et al.*, 2020; FRANÇOIS *et al.*, 2016). Além disso, observou-se que a quantidade adsorvida de cafeína experimental e teoricamente no MIP ($0,036$ e $0,011 \text{ mg g}^{-1}$) foi maior que no NIP ($0,008$ e $0,006 \text{ mg g}^{-1}$) o que era esperado devido aos sítios ativos deixados pela molécula molde durante a impressão molecular da cafeína no MIP de poli(TMPTA-co-EDMA). Com esses dados, foi calculado o fator de impressão molecular da cafeína no MIP, de acordo com a Equação 9 (GRYSHCHENKO; BOTTARO, 2014).

$$IF = \frac{Q_{MIP}}{Q_{NIP}}$$

Equação 9

Em que: IF (*imprinting factor*) é o fator de impressão da cafeína nos monolitos; Q_{MIP} é a capacidade máxima de adsorção da cafeína no MIP e Q_{NIP} é a capacidade máxima de adsorção da cafeína no NIP de poli(TMPTA-co-EDMA).

O valor obtido considerando os dados de adsorção máxima de cafeína no MIP e NIP obtidos pelos modelos de Freundlich e Langmuir, respectivamente, foi de 2,04 (teórico) e 4,56 (experimental). Valores de IF acima de 1,0 sugerem uma alta afinidade dos sítios de interação MIP e quanto maior o valor mais eficiente foi o processo de impressão molecular (SPIVAK, 2005; GRYSHCHENKO; BOTTARO, 2014). Desta forma,

pode-se considerar que a impressão molecular da cafeína no monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) foi alcançada de forma satisfatória.

4.5 Otimização da extração de cafeína via DPX com poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)

É importante mencionar que os monolitos empregados para o estudo de aplicação na extração da cafeína de amostras aquosas foram os preparados com a adição de ácido metacrílico (MAA), o poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA), uma vez que os monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) MIP e NIP apresentaram maior hidrofobicidade e, em testes realizados para a extração da cafeína, não alcançaram níveis de retenção satisfatórios de cafeína. Mesmo o monolito impresso molecularmente apresentou baixa retenção de cafeína. Dessa forma, foi realizada a modificação do monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) com o ácido metacrílico para fornecer um grau de hidrofiliicidade da estrutura monolítica. Os monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) apresentaram maior retenção de cafeína em testes preliminares e, desta forma, foram escolhidos para avaliação da extração de cafeína de amostras aquosas.

4.5.1 Uso de aditivos na amostra

A adição de eletrólitos, o ajuste de pH, a adição de tensoativos entre outras condições à amostra podem facilitar a retenção do analito em fases sólidas, devido a processos de dessolvatação das moléculas do analito do solvente das amostras. Desta forma, avaliou-se a adição de sais e o tamponamento da amostra aquosa de cafeína na tentativa de aumentar a retenção do composto nos monolitos.

Todas as amostras de água foram fortificadas com $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cafeína. Foram avaliadas as amostras de água ultrapura, água com 5 % (m/v) de NaCl e água tamponada a pH 9,0 com acetato de amônio. Os monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) foram empregados na extração das amostras nas três condições estudadas e os extratos obtidos foram analisados por HPLC. A condição de melhor extração da cafeína foi registrada no gráfico da Figura 26.

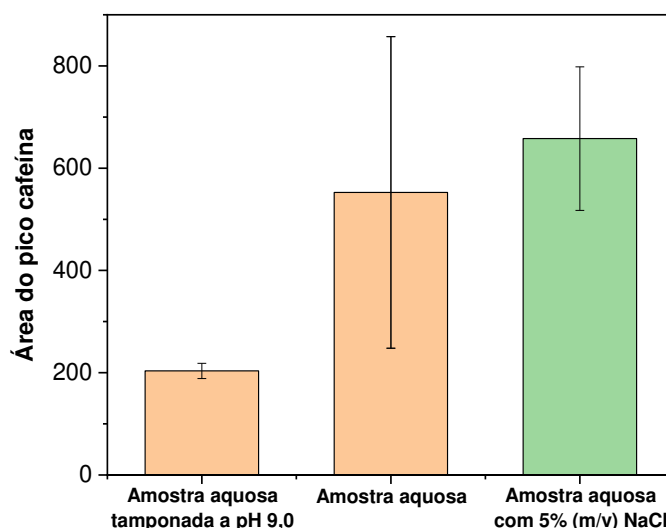


Figura 26. Extração de cafeína pelos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) sob diferentes condições da amostra. N = 3.

De acordo com a Figura 26 observa-se que a cafeína é mais bem extraída em amostra aquosa com adição de eletrólitos. A amostra aquosa tamponada em pH 9,00 apresentou a menor extração da cafeína pelos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA), uma possível explicação seria a neutralização dos sítios ácidos da fração de ácido metacrílico da superfície do monolito, logo diminuindo a interação entre o monolito e a cafeína (THEODORIDIS, MANESIOTIS, 2002). A variação da quantidade extraída de cafeína na amostra aquosa sem aditivos foi a mais elevada, indicando uma baixa repetibilidade nessa condição. Diferenças entre os monolitos, disponibilidade de sítios ativos ou diferenças na solvatação da cafeína pelas moléculas de água podem ter sido responsáveis por essa variação. Como visto anteriormente, a extração da cafeína pelos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) foi mais eficiente na amostra contendo 5 % (m/v) de NaCl. A adição do NaCl visou promover o efeito *salting-out* no sistema de extração, diminuindo a solubilidade da cafeína no meio aquoso e facilitando a sua retenção nos sítios ativos superficiais dos monolitos (GRECCO *et al.*, 2018; MELWANKI; FUH, 2008). Dessa forma, foi definida como condição de extração DPX da cafeína de amostras aquosas pelo monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) a adição de 5 % m/v de NaCl às amostras, antes do processo de extração.

Após a definição da condição inicial da amostra para a extração, foi avaliado o número de ciclos, de aspiração e expulsão do líquido da amostra pela ponteira contendo o monolito, necessários para uma maior retenção da cafeína. Foram testados até 5 ciclos de aspiração e descarte da amostra pela ponteira contendo o monolito. A Figura 27

apresenta a o efeito no número de ciclos de aspiração/descarte da amostra na retenção da cafeína no poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA).

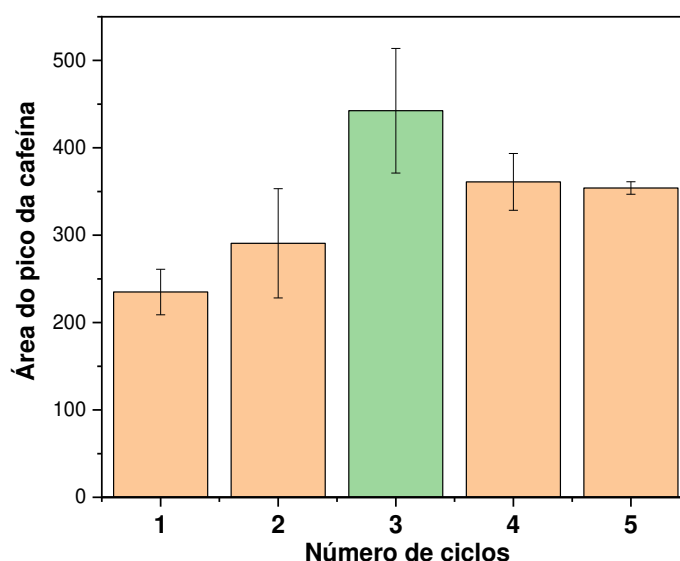


Figura 27. Extração da cafeína pelo monolito poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) em função do número de ciclos de aspiração/descarte da amostra de água com 5 % (m/v) de NaCl. N = 3.

O número de ciclos de aspiração/descarte da amostra pela ponteira contendo o monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) apresenta efeito importante no processo de retenção e extração da cafeína. Como observado na Figura 27, até o terceiro ciclo de aspiração há um aumento na retenção e, conseqüentemente, na extração da cafeína. O aumento do número de ciclos, no entanto, leva a uma diminuição da quantidade extraída de cafeína. Na prática, observou-se que após 3 ciclos, a vazão de líquidos pelo monolito diminuiu, provavelmente devido a efeitos de compressão do monolito dentro da ponteira. Além disso, é possível que ocorra um efeito *breakthrough* na aspiração/descarte da amostra, em que em números maiores que 3 ciclos leva à lixiviação da cafeína retida no monolito pela própria amostra. Portanto, foram fixados três ciclos de aspiração/descarte da amostra com 5 % (m/v) de NaCl como melhor condição de retenção da cafeína nos monolitos.

4.5.2 Solvente extrator

A segunda etapa do processo de extração envolve a dessorção da cafeína dos sítios ativos do monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA), empregando um solvente extrator de maior afinidade pelo analito que o material polimérico. A escolha do solvente

extrator foi baseada naqueles mais polares, uma vez que a cafeína se apresenta como uma substância de polaridade elevada, $\text{LogP} = -0,07$ (PubChem, 2023). Foram avaliados metanol, acetonitrila, diclorometano, clorofórmio e metanol acidificado com 1 % (v/v) CH_3COOH que foram eluidos pelos monolitos poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) contendo a cafeína retida na primeira etapa do processo de extração DPX. O efeito do solvente extrator na dessorção da cafeína das ponteiros contendo os monolitos está apresentado na Figura 28.

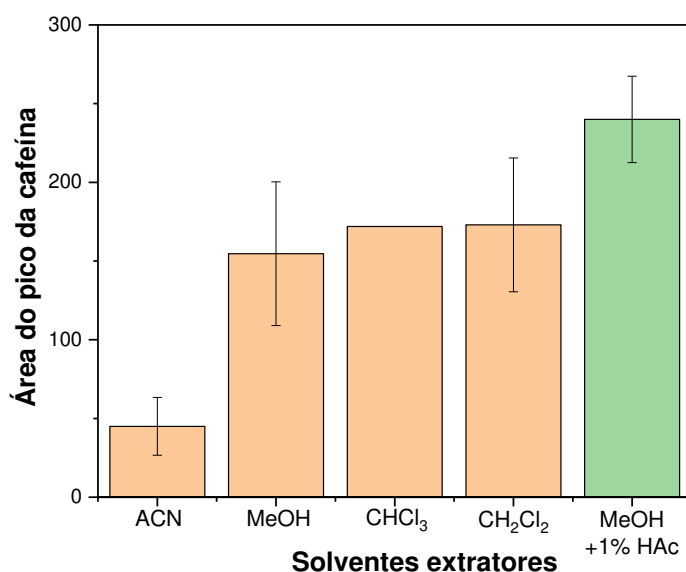


Figura 28. Efeito de solventes extratores na dessorção da cafeína dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) no processo de extração DPX. N = 3.

De acordo com a Figura 28 a acetonitrila apresentou uma baixa capacidade de remoção da cafeína dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA). O metanol, o diclorometano e o clorofórmio apresentaram extrações similares de cafeína dos monolitos, no entanto, os solventes clorados durante o processo de extração são facilmente volatilizados, dificultando o processo de extração em ciclos na ponteira. Logo, determinou-se que o metanol seria um bom solvente extrator, porém, visando aumentar a extração da cafeína acidificou o metanol com 1% de ácido acético. O efeito do ácido foi positivo no processo de extração, aumentando a taxa de dessorção da cafeína dos monolitos, como pode ser observado na Figura 28. A presença do ácido no solvente extrator pode ter aumentado o número de interações intermoleculares do solvente extrator com a molécula de cafeína, favorecendo uma maior dessorção dos monolitos. Assim, foi fixado como solvente de eluição da cafeína dos monolitos contidos nas ponteiros de micropipeta o metanol acidificado a 1% com ácido acético. Portanto,

avaliou-se o número de ciclos de eluição da cafeína da ponteira de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) visando um aumento da eficiência de extração da cafeína pelo método DPX com o sorvente monolítico. Testou-se a eluição da cafeína com até 4 ciclos de metanol acidificado. O efeito do número de ciclos de solvente extrator na eluição da cafeína está apresentado na Figura 29.

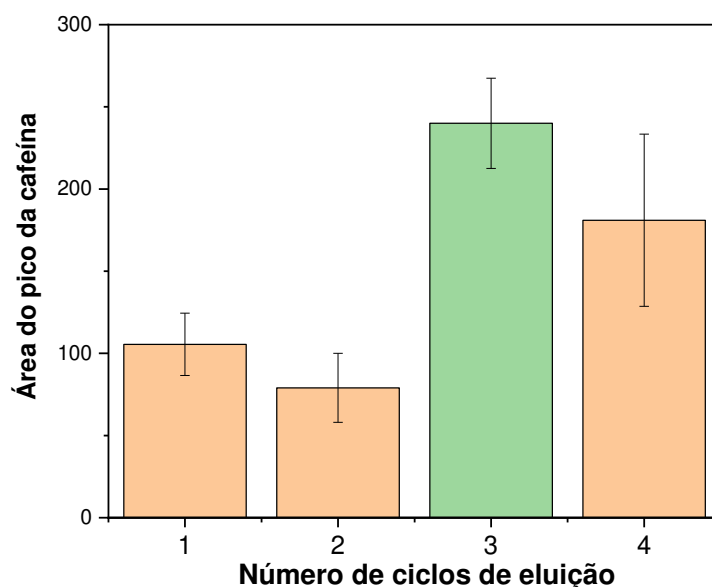


Figura 29. Efeito do número de ciclos de eluição com solvente extrator pelo monolito poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) para extração da cafeína de amostras aquosas. N = 3.

De acordo com a Figura 29 observou-se que ao realizar até dois ciclos de eluição obteve-se uma menor extração da cafeína, informando que apenas um ciclo não seria o suficiente para a dessorção do composto no monolito. Assim como para o processo de retenção da cafeína no monolito, três ciclos de eluição foi o que resultou em melhor dessorção da cafeína. Acima de 3 ciclos houve uma diminuição na taxa de eluição da cafeína do monolito, provavelmente devido aos mesmos efeitos observados nos ciclos de aspiração da amostra. Portanto, foram fixados três ciclos de eluição da cafeína com o metanol acidificado dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA).

4.5.3 Reutilização das fases monolíticas

Após a otimização do processo de extração da cafeína de amostras de água pelo monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) na ponteira de micropipeta, avaliou-se a possibilidade de reutilização dos monolitos. Primeiramente, os monolitos usados na extração da cafeína foram recuperados eluindo metanol em três ciclos. Em seguida, os

monolitos recuperados foram submetidos a extração da cafeína novamente e comparados com a extração da cafeína das mesmas amostras de água por monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) novos. A Figura 30 apresenta o desempenho dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) após três ciclos de limpeza com metanol e de monolitos novos na extração de cafeína de amostra aquosa, nas condições previamente otimizadas.

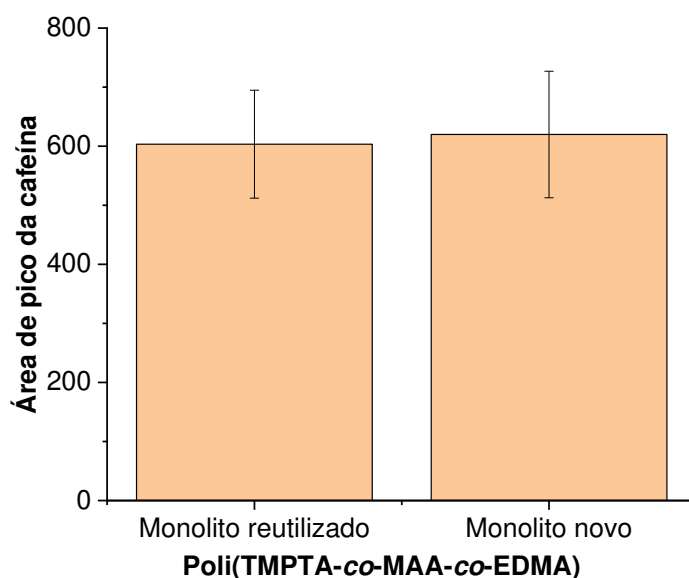


Figura 30. Reutilização dos monolitos na extração de cafeína de amostras de água. N = 3.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 30 a reutilização dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) por mais uma vez não apresentou qualquer perda significativa de desempenho comparada a monolitos novos. A perda de desempenho foi de apenas 2,6 % na extração da cafeína da mesma amostra de água. Desta forma, pode-se reutilizar os monolitos no processo de extração de cafeína após uma simples eluição de metanol em três ciclos empregando os monolitos em ponteiras de micropipeta previamente utilizados.

4.5.4 Comparação das extrações da cafeína pelas fases monolíticas na ponteira

Para a comprovação de qual melhor monolito produzido neste trabalho extrairia uma maior fração da cafeína de uma solução aquosa, testou-se as condições otimizadas da extração DPX empregando o poli(TMPTA-co-EDMA), o poli(TMPTA-co-EDMA) impresso molecularmente com cafeína e o poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) na ponteira de micropipeta, obtendo-se os resultados apresentados na Figura 31.

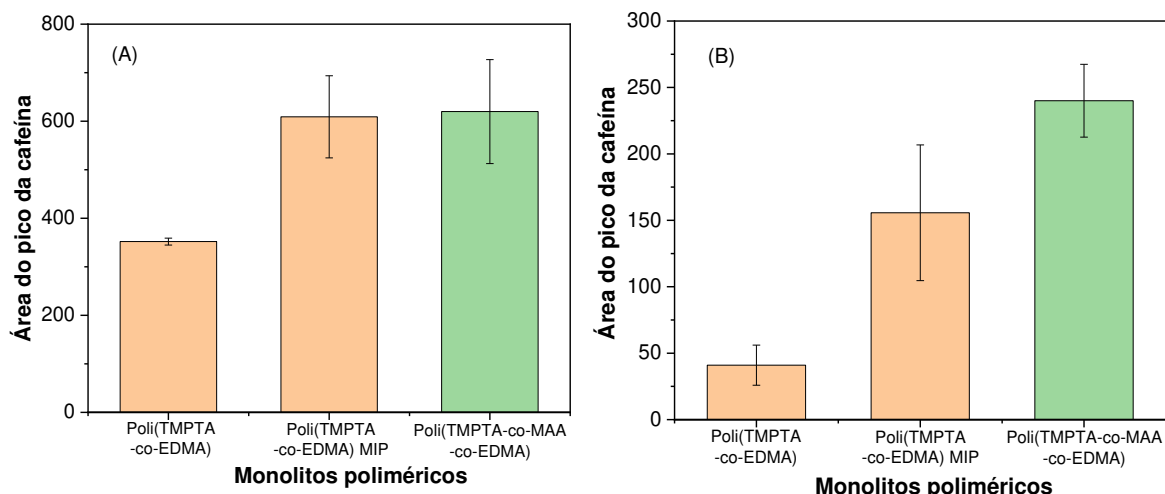


Figura 31. Comparação da extração da cafeína de amostras de água pelos monolitos de poli(TMPTA-co-EDMA) e poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA): (A) retenção da cafeína nos monolitos e (B) eluição da cafeína dos monolitos. N = 3.

De acordo com a Figura 31A observa-se que o poli(TMPTA-co-EDMA) resultou na menor retenção da cafeína comparada aos outros monolitos, o que era esperado tendo em vista que o NIP se apresenta como o monolito mais hidrofóbico e que não possui nenhum sítio de interação específica com a cafeína. Em contraposição, o poli(TMPTA-co-EDMA) MIP e o poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) apresentaram retenções muito similares de cafeína, indicando que tanto o monolito impresso molecularmente quanto aquele com a inserção de monômero polar apresentam sítios de interações mais adequados à cafeína. Porém, a eluição da cafeína (Figura 31B) foi mais facilitada do poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) do que para o MIP, demonstrando que a interação da cafeína com o MIP pode ser mais forte e dessa maneira dificultando a sua retirada posteriormente com o solvente extrator. Portanto, apesar da impressão molecular ter sido bem-sucedida, como apresentada no item 4.3.3, o monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) apresentou maior extração da cafeína do que o MIP de poli(TMPTA-co-EDMA). Logo, aplicou-se o poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) na extração de cafeína de amostras aquosas.

4.6 Aplicabilidade da extração DPX com poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA)

O método de extração DPX com os monolitos de poli(TMPTA-co-MA-co-EDMA), nas condições previamente otimizadas, foi aplicado na extração de cafeína de três

amostras de água fortificadas a $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$: água do Ribeirão São Lourenço, Ituiutaba/MG; água de torneira, e; água ultrapura. A água da torneira, coletada no laboratório, trata-se da água do mesmo Ribeirão São Lourenço, porém submetida à Estação de Tratamento de Água (ETA) da cidade de Ituiutaba/MG. A Figura 32 apresenta os resultados da aplicação dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) na extração DPX de cafeína das amostras de água.

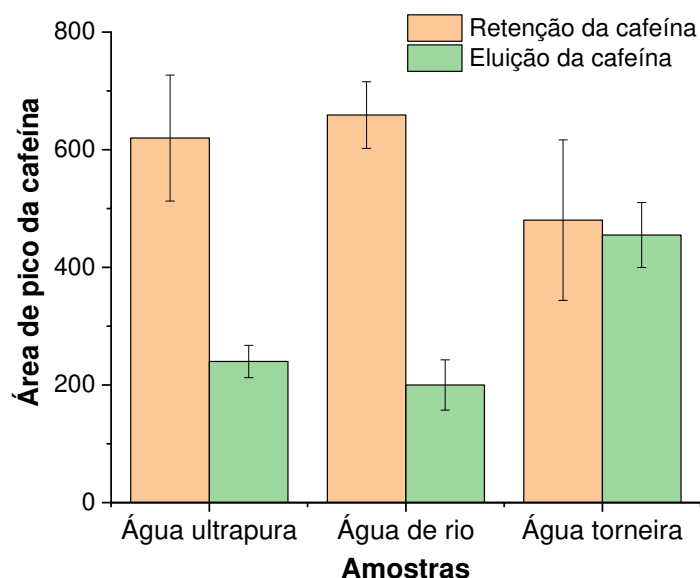


Figura 32. Retenção e eluição da cafeína extraída de amostras de água fortificadas pelo método otimizado DPX com os monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA). N = 3.

De acordo com a Figura 32, observou-se que os monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) extraíram, em média, quantidades similares de cafeína das amostras de água do Ribeirão São Lourenço e da água ultrapura, porém em menor proporção das amostras de água da torneira, apesar da dispersão dos resultados nesta amostra incluir a quantidade extraída dentro da mesma faixa que as demais amostras. Apesar dessa menor extração da cafeína, em média, das amostras de água de torneira, o metanol acidificado possibilitou maior eluição da cafeína na segunda etapa do processo de extração DPX para estas amostras. Essa diferença é observada em outros trabalhos da literatura e são justificadas pela possível ação de substâncias, empregadas na ETA, que estão dissolvidas na água e reduzem as forças de interação entre as moléculas da cafeína e os sítios dos monolitos (JOGODA; ZUKOWSKI; DABROWSKA, 2015; BURGE *et al.*, 2003). Das amostras de água ultrapura e do Ribeirão São Lourenço, foram desorvidas quantidades entre 28 e 35 % de cafeína dos monolitos comparadas às quantidades extraídas inicialmente. Apesar destes resultados, a extração DPX da

caféina das amostras de água de torneira sugerem que o uso de aditivos nas amostras de água antes da extração podem favorecer uma maior dessorção da caféina dos monolitos na etapa de eluição do método DPX.

Para fins de comprovação, a amostra de água do Ribeirão São Lourenço foi também extraída por um método SPE sob condições otimizadas e validadas para amostras de água similares (BURGE *et al.*, 2003). A retenção e dessorção da caféina das fases sólidas a base de C₁₈ e dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) produzidas neste trabalho estão apresentadas na Figura 33.

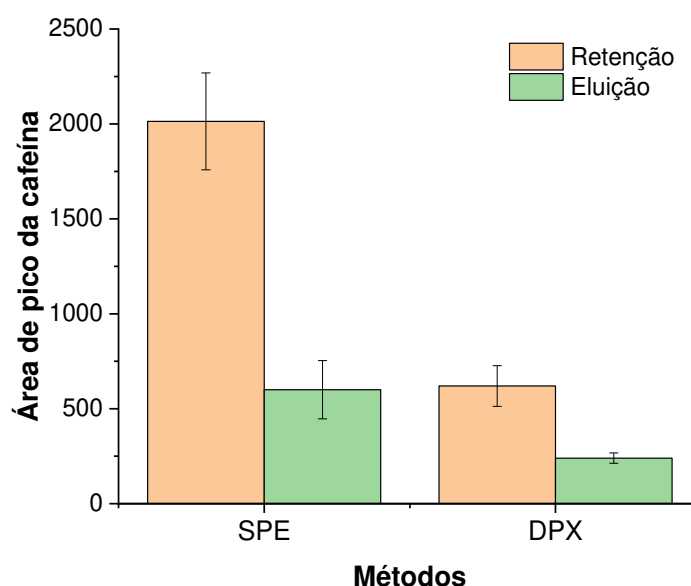


Figura 33. Comparação dos métodos SPE e DPX com monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) na extração de caféina de água e na posterior eluição da caféina do sorvente. N = 3.

Observa-se na Figura 33 que o sorvente C₁₈ da SPE retém maior quantidade de caféina que o monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA), porém esta situação já era esperada, uma vez que a quantidade de sítios ativos no monolito é significativamente inferior à presente na fase sólida, em uma maior massa dentro do cartucho de SPE. Apesar disso, observou-se que a eluição da caféina da fase sólida nos cartuchos SPE foi proporcionalmente, em relação à quantidade retida, similar à eluição da caféina dos monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA). É importante mencionar que, em todos os estudos realizados para otimização e aplicação dos monolitos na extração da caféina de amostras aquosas, houve uma repetibilidade do processo de extração DPX com o poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA), indicando boa precisão do método.

5 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos, conclui-se que foi possível produzir um monolito a base de poli(trimetilolpropano triacrilato-co-etilenoglicol) e poli(trimetilolpropano triacrilato-co-ácido metacrílico-co-etilenoglicol dimetacrilato) com as características desejáveis para um processo de extração em fluxo, sem a necessidade de uso de bombas de pressão ou de vácuo para passagem de líquidos. A condição na qual o monolito de poli(TMPTA-co-EDMA) apresentou melhores resultados foi a que utilizou o solvente porogênico isopropanol na proporção de 70 % para 10 % de TMPTA e 20 % de EDMA termopolimerizado a 60 °C por 20 h, empregando o AIBN a 1 % v/v como iniciador radicalar. Essa mesma condição foi utilizada para o processo de adição de um monômero com maior polaridade e o melhor resultado foi obtido com a condição 5 % de TMPTA e

5 % de MAA. A partir da condição do poli(TMPTA-co-EDMA) sintetizou-se o monolito impresso molecularmente com cafeína, sendo a concentração de 0,01 mol L⁻¹ de cafeína solubilizada no solvente porogênico a condição estabelecida. A caracterização físico-química e térmica dos monolitos confirmou a presença de sinais de infravermelho característicos dos monômeros na estrutura monolítica, bem como perfis térmicos de curvas TG que sugerem uma estrutura bastante regular contendo EDMA e TMPTA nos monolitos. A caracterização morfológica indicou que os monolitos apresentam núcleos sólidos globulares entremeados de macroporos que fornecem a permeabilidade de líquidos pela estrutura monolítica tanto do poli(TMPTA-co-EDMA) como do poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA). Os monolitos apresentaram elevada área superficial específica e elevada porosidade, porém o MIP de poli(TMPTA-co-EDMA) apresentou praticamente o dobro da área superficial e do volume total de poros do NIP e do poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA). Estudos de adsorção da cafeína nos monolitos indicaram uma interação da cafeína com o polímero impresso molecularmente de forma mais intensa que o monolito sem impressão, e que o fator de impressão calculado pelos dados de adsorção indicou boa eficiência no processo de impressão molecular.

Os monolitos de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) foram aplicados na extração de cafeína de amostras aquosas. A otimização da extração da cafeína pelo monolito de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) resultou na extração do composto de amostras de água aditivadas com 5 % (m/v) de NaCl, sendo aspiradas em 3 ciclos pela ponteira contendo o

monolito e, posteriormente aspirando metanol acidificado com 1% de ácido acético, em três ciclos, para dessorção da cafeína. A aplicação do poli(TMPTA-co-EDMA-co-MAA) em amostras aquosas mostrou que o monolito consegue realizar a extração da cafeína de águas.

Além da eficiência da extração, outra grande vantagem do monolito é o tempo de extração da cafeína que é em torno de 5 a 10 minutos. Desta forma, foi possível desenvolver um dispositivo DPX baseado em sorvente monolítico polimérico de poli(TMPTA-co-MAA-co-EDMA) para extração da cafeína em água de forma simples, fácil, totalmente portátil, rápida e economicamente viável.

REFERÊNCIAS

- ARSHADY, R.; MOSBACH, K. Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization. *Die Makromolekulare Chemie*, v. 182, p. 687-692, 1981. <https://doi.org/10.1002/macp.1981.021820240>
- BAI, X.; LIU, H.; WEI, D.; YAMG, G. Preparation of a novel porous poly(trimethylol propane triacrylate-co-ethylene dimethacrylate) monolithic column for highly efficient HPLC separations of small molecules. *Talanta*, v. 119, p. 479-484, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.050>
- BETLEM, K.; MAHMOOD, L.; SEIXAS, R. D.; SADIKI, I.; RAIMBAULT, R. L. D.; FOSTER, C. W.; CRAPNELL, R. D.; TEDESCO, S.; BANKS, C. E.; GRUBER, J.; PEETERS, M. Evaluating the temperature dependence of heat-transfer based detection: a case with caffeine and molecularly imprinted polymers as synthetic receptors. *Chemical Engineering Journal*, v. 359, p. 505-517, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.114>
- BURGE, I. J., POIGER, T., MÜLER, M. D., BUSER, H. R. Caffeine, an Anthropogenic Marker for Wastewater Contamination of Surface Waters. *Environ. Sci. Technol.*, v. 37, p. 691-700, 2003. <https://doi.org/10.1021/es020125z>
- BUCHMEISER, M. R. Polymeric monolithic materials: Syntheses, properties, functionalization, and applications. *Polymer*, v. 48, p. 2187-2198, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2007.02.045>
- 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. *J. Sep. Sci.*, v. 39, p. 1168-1172, 2016. <https://doi.org/10.1002/jssc.201500932>
- CHAVES, A. R., MOURA, B. H. F., CARIS, J. A., RABELO, D., QUEIROZ, M. E. C. The development of a new disposable pipette extraction phase based on polyaniline composites for determination of levels of antidepressants in plasma samples. *Journal of Chromatography A*, v. 1399, p. 1-7, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.04.027>
- COMARCK, P.A.G.; ELORZA, A.Z. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. *Journal of Chromatography B*, v. 804, p. 173-182, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.02.013>
- CORAZZA, G., MERIB, J., MAGOSSO, H. A. BITTENCOURT, O. R., CARASEK, E. A hybrid material as a sorbent phase for the disposable pipette extraction technique enhances efficiency in

the determination of phenolic endocrine-disrupting compounds. *Journal of Chromatography A*, v. 1513, p. 42-50, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.07.050>

DING, X.; YANG, J.; DONG, Y. Advancements in the preparation of high-performance liquid chromatographic organic Polymer monoliths for the separation of small-molecule drugs. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 8, p. 75-85, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2018.02.001>

DING, L.; ZHANG, C., WU, T., YANG, F., CAO, Y., XIANG, M. The compression behavior, microstructure evolution and properties variation of three kinds of commercial battery separators under compression load. *Journal of Power Sources*, v. 451, 227819, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2020.227819>

DOTTO, G. L.; VIERIA, M. L. G.; GONÇALVES, J. O.; PINTO L. A. A. Remoção dos corantes azul brilhante, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina de soluções aquosas utilizando carvão ativado, terra ativada, terra diatomácea, quitina e quitosana: estudo de equilíbrio e termodinâmica. *Química Nova*, v.34, n.7, p.1193-1199, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000700017>

EIORA, A. A; CANLE, M.; CANCELLIERI, V. L.; CERDÁ. Solid-phase extraction of organic compounds: a critical review. *Trends in Analytica Chemistry*, v.80, p. 641-654, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.015>

FARIA, A. M.; BOTTOLI. C. B. G.; JARDIM, I.C.S.F; COLLINS, C. H. Fases Estacionária Monolíticas para Separações Cromatográficas. *Química Nova*, v. 29, p. 300-309, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200022>

FARRINGTON, K.; MAGNER, E.; REGAN, F. Predicting the performance of molecular imprinted polymers: selective extraction of caffeine by molecular imprinted solid phase extraction. *Analytica Chimica Acta*, v.566, p. 60-68, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.02.057>

FRANÇOIS, L. L.; HARO, N. K.; SOUZA, F. S.; FÉRIS, L. A. Remoção de cafeína por adsorção em carvão. *Scientia Cum Industrial*, v.4, n.2, p.64-68, 2016. <https://doi.org/10.18226/23185279.v4iss2p64>

FRESCO-CALA, B.; CÁRDENAS, S. Potential of nanoparticle-based hybrid monoliths as sorbents in microextraction techniques. *Analytica Chimica Acta*, v. 1031, p. 15-27, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.05.069>

GILES, C. H., MACEWAN, T. H., NAKWA, S. N., SMITH, D. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption

mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *Journal of the Chemical Society*, p.3973-3993, 1960. <https://doi.org/10.1039/jr9600003973>

GRECCO, C. F.; MIRANDO, L.F.C.; CRUZ, J. C.; QUIEROZ, M. E. C. Extração líquido-líquido assistida pelo efeito salting out para análise de amostras biológicas. *Scientia Chromatographica*, p. 99-110, 2018. <https://doi.org/10.5935/sc.2018.006>

GRISHCHENKO, A. O.; BOTTARO, C. S. Development of molecularly imprinted polymer in porous film format for binding of phenol and alkylphenols from water. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 15, p. 1338-1357, 2014. <https://doi.org/10.3390/ijms15011338>

HOSSEN, M.R., TALBOT, M. W.; KENNARD, R., BOUSFIELD, D. W., MASON, M. D. A comparative study of methods for porosity determination of cellulose based porous materials. *Cellulose*, v. 27, n. 12, p. 6849-6860, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03257-9>

JAGODA, A., ZUKOWSKI, W., DABBROWSKA, B. Investigations of the presence of caffeine in the Rudawa River, Kraków, Poland. *Environmental Monitoring and Assessment*, n. 566, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4760-7>

JARDIM, I. C. S. F. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. *Scientia Chromatographica*, v.2, p. 13-25, 2010.

LEANDRO-SILVA, E.; PIPI, A. R. F.; MAGDALENA, A. G.; PIACENTI-SILVA, M. Aplicação dos modelos de Langmuir e Freundlich no estudo da casca de banana com bioadsorvente de cobre (II) em meio aquoso. *Revista Matéria*, v.25, n.2, 2020. <https://doi.org/10.1590/s1517-707620200002.1056>

LORENZO, R. A.; CARRO, A. M.; ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A. To Remove or Not to Remove? The Challenge of Extracting the Template to Make the Cavities Available in Molecularly Imprinted Polymers (MIPs). *International Journal of Molecular Sciences*, v.12, p. 4327-4347, 2011. <https://doi.org/10.3390/ijms12074327>

LU, X; LI, X. Preparation of polyvinylidene fluoride membrane via a thermally induced phase separation using a mixed diluent. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 114, p. 1213-1219, 2009. <https://doi.org/10.1002/app.30184>

MAFRA, G., SPUDEIT, D., BROGNOLI, R., MERIB, J., CARASEK, E. Expanding the applicability of cork as extraction phase for disposable pipette extraction in multiresidue analysis of pharmaceuticals in urine samples. *Journal of Chromatography B*, v. 1102-1103, p. 159-166, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.10.021>

MAJORS, R. E. Overview of Sample Preparation. *LCGC*, v.33, p. 46-51, 2015. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-54319-6.00002-5>

MELWANKI, M. B., FUH, M.R. Partitioned dispersive liquid-liquid microextraction as an approach for polar organic compounds extraction from aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, v. 1207, p. 24-28, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.08.052>

MIRANDA, H. M.; CUNHA, S. S.; DE MAGALHÃES, B. E. A.; SANTANA, D. A. Cafeína em alimentos e bebidas: uma revisão sobre métodos de extração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos: pesquisa e práticas contemporâneas*. Guarujá: Editora Científica Digital, v.1, p. 148-161, 2021. <https://doi.org/10.37885/210504587>

NEMA, T.; CHAN, E. C. Y.; HO, P. C. Applications of monolithic materials for sample preparation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 87, p. 130-141, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.05.036>

NISCHANG, I. Porous Polymer monoliths: Morphology, porous properties, polymer nanoscale gel structure and their impact on chromatographic performance. *Journal of Chromatography A*, v.1287, p.39-58, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.11.016>

OLSEN, S. R.; WATANABE, F. S. A method to determine a phosphorus adsorption maximum of soils as measured by the Langmuir isotherm. *Soil Science Society of America Journal*, p. 144-149, 1957. <https://doi.org/10.2136/sssaj1957.03615995002100020004x>

OMIDIAN, H. HASHEMI, S.A. SAMMES, P. G. MELDRUM, I. A model for the swelling of superabsorbent polymers. *Polymer*, v. 39, p. 6697-6704, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(98\)00095-0](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00095-0)

PICHON, V.; HUGON, F.C. Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants – A review. *Analytica Chimica Acta*, v. 622, p. 48-61, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.05.057>

PINTO, M. A. L.; QUEIROZ, M. E. C. Extração em ponteiras descartáveis: fundamentos teóricos e aplicações. *Scientia Chromatographica*, v.7, p. 101-108, 2015. <https://doi.org/10.4322/sc.2015.019>

POLYAKOV, M. Adsorption properties and structure of silica gel. *Zhurnal Fizicheskoy Khimii*, v. 2, p. 799-805, 1931.

PUBCHEM identifier: CID 887 in <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/887>, acessado em fev. 2023.

- SABARUDIN, A. Organic Polymer monolith: synthesis and applications for bioanalytical. *Advances in Engineering Research*, v. 171, p. 1-7, 2018. <https://doi.org/10.2991/snk-18.2018.1>
- SAEED, A.; MAYA, F.; XIAO, D. J.; NAJAM-UL-HAQ, M.; SVEC, F.; BRITT, D.K. Growth of Highly Porous Coordination Polymer on a macroporous Polymer Monolith Support for Enhanced Immobilized Metal Ion Affinity Chromatographic enrichment of Phosphopeptides. *Advanced Functional materials*, v. 24, p. 5790-5797, 2014. <https://doi.org/10.1002/adfm.201400116>
- SING, K. S. W. Reporting physisorption data for gas/solid systems with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity. *Pure & Applied Chemistry*, v. 54, p. 2201-2218, 1982. <https://doi.org/10.1351/pac198254112201>
- SOUZA, R. S.; CHAVES, L. H. G.; FERNANDES, J. D. Isotermas de Langmuir e de Freundlich na descrição da adsorção de zinco em solos do estado de Paraíba. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 2, p.123-127, 2007. <https://doi.org/10.5039/agraria.v2i2a785>
- SPIVAK, D.A. Selectivity in molecularly imprinted matrices. In: *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*; Yan, M., Ramström, O., Eds.; Marcel Dekker: New York, NY, USA, 2005; p. 413. <https://doi.org/10.1201/9781420030303.ch15>
- SUN, H.W.; QIAO, F.X.; LIU, G.Y. Characteristic of theophylline imprinted monolithic column and its application for determination of xanthine derivatives caffeine and theophylline in green tea. *Journal of Chromatography A*, v. 1134, p. 194-200, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.09.004>
- SORRIBES-SORIANO, A., VALENCIA, A., ESTEVE-TURRILLAS, F. A., ARMENTA, S., HERRERO-MARTÍNEZ, J. M. Development of pipette tip-based poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethacrylate) monolith for the extraction of drugs of abuse oral fluid samples. *Talanta*, v. 205, p. 120-158, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120158>
- SVEC, F. Porous Polymer monoliths: Amazingly wide variety of techniques enabling their preparation. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, p. 902-924, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.073>
- SVEC, F. Organic Polymer monoliths as stationary phases for capillary HPLC. *Journal of Separation Science*, v. 27, p. 1419-1430, 2004. <https://doi.org/10.1002/jssc.200401825>
- SVOBODOVÁ, A., KRIZEK, T., SIRC, J., SALEK, P., TESAROVA, E., COUFAL, P., STULIK, K. Monolithic columns based on a poly(styrene-divinylbenzene-methacrylic acid) copolymer for capillary liquid chromatography of small organic molecules. *Journal of Chromatography A*, v.

1218, p. 1544-1547, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.01.042>

TARLEY, C. R.T.; SOTOMAYOR, M. D. P.T., KUBOTA, L. T. Polímeros biomiméticos em química analítica, parte 1: preparo e aplicações de MIP ("molecularly imprinted polymers") em técnicas de extração e separação. Química Nova, v. 28, p. 1076-1086, 2005.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000600024>

TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. Química Nova, v. 24, p. 808-818, 2001.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000600019>

THEODORIDIS, G; MANESIOTIS, P. Selective solid-phase extraction sorbent caffeine made by molecular imprinting. Journal of Chromatography A, v. 948, p.163 - 169, 2002.

[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01457-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01457-1)

THOMMES, M.; KANEKO, K.; NEIMARK, A. V.; OLIVIES, J. P.; ODRIGUEZ-REINOSO, F.; ROUQUEROL, J.; SING, K. S. W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and porous size distribution (IUPAC technical report). Pure Appl. Chem, v. 87, p. 1051-1069, 2015.

<https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>

TOOMEY, R. FREIDANK, D. RUHE, J. Swelling behavior of thin, surface-attached Polymer networks. Macromolecules, v. 37, p. 882-887, 2004.

<https://doi.org/10.1021/ma034737v>

TURIEL, E.; ESTEBAN, A. M. Molecularly imprinted polymers. IN: Solid-phase extraction: Handbooks in Separation Science, p. 215-233, 2020.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816906-3.00008-X>

WALSH, Z., PAULL, B., MACKA, M. inorganic monoliths in separation Science: a review. Analytica Chimica Acta, v. 720, p. 28-47, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.04.029>

Wei, Z.-H.; Mu, L.-N.; Huang, Y.-P.; Liu, Z.-S. Imprinted monoliths: recent significant progress in analysis field. Trends in Analytical Chemistry, v.86, p. 84-92, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.10.009>

WULFF, G.; SARHAN, A. Macromolecular Colloquium. Angewandte Chemie International Edition in English, v. 11, p. 334-342, 1972.

<https://doi.org/10.1002/anie.197203341>

ZHU, T.; ROW, K. H. Preparation and applications of hybrid organic-inorganic monoliths: A review. J. Sep. Sci, v.35, p. 1294 - 1302, 2012.

<https://doi.org/10.1002/jssc.201200084>