



**UnB**

**Universidade de Brasília  
Instituto de Química**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**CONFEÇÃO DE MEMBRANA LIGANTE DE POLÍMERO MOLECULARMENTE  
IMPRESSO PARA AMOSTRAGEM PASSIVA E EXTRAÇÃO DE SACARINA EM  
ÁGUAS SUPERFICIAIS**

**MARIA VITÓRIA DOS SANTOS VILLA BANDE**

**Orientadora**

**Prof. Dra. Ana Cristi Basile Dias**

**Coorientadora**

**Dra. Fabiana Casarin**

**BRASÍLIA, DF.  
2021**



**UnB**

**Universidade de Brasília  
Instituto de Química**

MARIA VITÓRIA DOS SANTOS VILLA BANDE

**CONFECÇÃO DE MEMBRANA LIGANTE DE POLÍMERO MOLECULARMENTE  
IMPRESSO PARA AMOSTRAGEM PASSIVA E EXTRAÇÃO DE SACARINA EM  
ÁGUAS SUPERFICIAIS**

Trabalho de conclusão do curso de Bacharelado em Química apresentado ao Instituto de Química da Universidade de Brasília como requisito parcial de obtenção do título de bacharel em Química.

Orientadora

Prof. Dra. Ana Cristi Basile Dias

Coorientadora

Dra. Fabiana Casarin

BRASÍLIA, DF.  
2021

**CONFECÇÃO DE MEMBRANA LIGANTE DE POLÍMERO MOLECULARMENTE  
IMPRESSO PARA AMOSTRAGEM PASSIVA E EXTRAÇÃO DE SACARINA EM  
ÁGUAS SUPERFICIAIS**

Maria Vitória dos Santos Villa Bande

---

Professora orientadora: Dr.<sup>a</sup> Ana Cristi Basile Dias

---

Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Fabiana Casarin

---

Professor: Dr. Alexandre Fonseca

---

Professora: Dr.<sup>a</sup> Lilian Rodrigues Braga

Brasília, maio de 2021

*"The world is round, and the place which may seem like  
the end may also be the beginning."*

*"O mundo é redondo, e o lugar que parece o fim pode  
ser o começo."*

***Ivy Baker Priest***

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, e por ter me colocado nesse caminho e vocação. Por toda energia, saúde e força de vontade para superar os desafios.

À minha família e principalmente à minha mãe, Nilza, a qual dedico esse trabalho. Obrigada por ser meu pilar e me ensinar todos os dias a vencer qualquer obstáculo não importa as dificuldades, nunca teria feito essa graduação se não fosse pelo seu apoio e pela educação e criação que você tanto lutou para me dar. A meu pai, José Luiz, e minha irmã Luna que sempre estiveram ao meu lado. A meus gatos que são uma das minhas maiores alegrias.

Às minhas orientadoras, professora Ana Cristi, Fabiana e Camila, que me ajudaram tanto durante esses três anos de trabalho. Elas sempre serão meu modelo como profissional, como mulher e como cientista. Sou eternamente grata por toda paciência, convivência, ensinamento e amizade.

Às amigas de bancada, Juliana e Izabella, pelos almoços e cafés compartilhados, pelo trabalho em equipe e tantas conversas. Agradeço aos outros professores e alunos do AQQUA.

Sou grata também aos meus amigos, que ofereceram um ombro nos momentos mais difíceis e me ajudaram a seguir em frente, obrigada por compreenderem a minha ausência em muitos momentos durante a graduação. Especialmente minhas amigas de vida, Maria Rita, Débora e Paula, que estiveram ao meu lado ao longo dos últimos anos, por escutarem meus desabafos e confissões, pelos abraços e ligações e por não permitirem que eu desistisse.

Aos professores que tive ao longo do curso, através de seus ensinamentos eu pude crescer intelectualmente como futura química.

Agradeço a banca desse presente trabalho de conclusão de curso pela disponibilidade e pelas inúmeras sugestões que agregaram muito para a nossa pesquisa.

Às agências de fomento, pelos incentivos financeiros e principalmente a FAP-DF pela bolsa de iniciação científica no desenvolvimento desse projeto.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma acreditaram em mim e fizeram parte da minha formação.

## RESUMO

A sacarina (SAC) é um edulcorante alimentício vastamente empregado em alimentos com redução no teor de açúcares. Estudos recentes indicaram a sua presença em compartimentos aquáticos, que motivaram a inserção desse composto na lista de novos contaminantes emergentes (CEs). Para o monitoramento de CEs, a amostragem passiva apresenta-se como uma alternativa promissora, em especial a amostragem por gradientes difusivos em filmes finos (DGT), visto que essa técnica permite pré-concentrar o analito, obter uma concentração média ponderada no tempo, reduzir interferências de matriz e economizar tempo e consumo de solventes. O DGT consiste de um filtro protetor, uma membrana difusiva e uma membrana de ligação (sorvente imobilizado), onde as substâncias são retidas para posterior determinação analítica. O uso de sorventes de alta seletividade e capacidade de reter o analito, como os Polímeros Molecularmente Impressos (MIP), é essencial na eficiência da amostragem por DGT. Assim, esse trabalho teve como objetivo a confecção de membranas de ligação para futura aplicação em dispositivo DGT para a determinação de SAC em águas superficiais, utilizando como membrana de ligação MIP híbrido (HMIP) imobilizado em agarose e um gel de agarose como membrana difusiva. As membranas de ligação foram confeccionadas utilizando proporção de 1,5% de agarose com 5% e 10% de HMIP, as membranas de 10% adsorveram até 1,3 vezes mais que membranas na proporção de 5%. Foram estudadas de maneira multivariada a influência dos fatores, pH (5 e 9) e força iônica (0,01 e 0,1 mol/L de NaNO<sub>3</sub>), na adsorção de SAC nas membranas de ligação para reproduzir as condições das águas superficiais, a partir de um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com triplicata no ponto central. O ponto ótimo de adsorção obtido foi força iônica de 0,01 mol L<sup>-1</sup> e pH 7. Foram realizados experimentos para avaliar e otimizar a dessorção de SAC das membranas de ligação, as condições que maximizam a massa de SAC dessorvida foram: 3 eluições consecutivas de 3 mL de solvente (Metanol/Acetonitrila 3:1 (v/v), pH 5) com 20 minutos de sonicação. A partir dos resultados obtidos conclui-se que a aplicação futura dessas membranas com HMIP imobilizado como membrana de ligação em amostradores passivos (DGT) para a amostragem de SAC em águas superficiais apresenta-se como uma alternativa promissora e inovadora, visto que alia tanto as vantagens da técnica DGT quanto a alta seletividade do HMIP para SAC.

Palavras-Chave: Amostrador passivo, DGT, MIP, Sacarina.

## ABSTRACT

Saccharin is an artificial and low-calorie sweetener widely used in foods and beverages with reduced sugar content, recent studies have been reporting its presence in aquatic compartments, motivating the insertion of these compound in the list of new emerging contaminants (EC). Passive sampling is a good alternative for aquatic monitoring of EC, in particular the passive sampling technique of diffusive gradients in thin films (DGT), since this technique allows to pre-concentrate the analyte, obtain a time-weighted average concentration, reduce matrix interference and save time and solvent consumption. The DGT device consists of a membrane filter, a diffusive gel and a binding phase (immobilized sorbent), in which the analyte is accumulated for further analytical determination. The use of highly selective sorbents, such as Molecularly Imprinted Polymers (MIP), is essential in the efficiency of DGT sampling. Therefore, the objective of this work is the manufacture of selective binding, hybrid MIP (HMIP) immobilized on agarose gel membranes, hybrid MIP (HMIP) immobilized on agarose gel, for further application DGT devices for determination of saccharin in surface water. The binding membrane was made of 1.5% agarose with 5 and 10% of HMIP, 10% membranes sorption up to 1.3 times more saccharin than 5% membranes. The influence of factors, pH (5 and 9) and ionic strength (0.01 and 0.1 mol / L of NaNO<sub>3</sub>), in the sorption of saccharin on the binding membrane to reproduce the surface water conditions were studied by a multivariate analysis. Using a 2<sup>2</sup> factorial design with triplicate at the central point, the optimum sorption conditions obtained were ionic strength of 0.01 mol L<sup>-1</sup> and pH 7. Experiments were carried out to evaluate and optimize the saccharin desorption of the binding membranes, the conditions that maximize the saccharin mass extracted were: 3 consecutive elution, 3 mL solvent (Methanol/Acetonitrile 3:1 (v/v), pH 5) and 20 minutes of sonication. From the results obtained, it's possible to conclude that the future application of these membranes with immobilized HMIP as binding membrane in passive samplers (DGT) for the sampling of saccharin in surface water presents itself as a promising alternative, since it combines both the advantages of DGT technique and the high selectivity of HMIP.

Keywords: Passive water sampler, DGT, MIP, Saccharin.

## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRONIMOS .....	ix
LISTA DE TABELAS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
1.1. Sacarina .....	1
1.2. Sacarina como Contaminante Emergente de Águas .....	1
1.3. Amostragem Passiva e DGT.....	3
1.4. Polímeros Molecularmente Impressos .....	6
2. OBJETIVOS.....	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	11
3.1. Reagentes Químicos.....	11
3.2. Equipamentos .....	11
3.3. Condições do Método Cromatográfico .....	11
3.4. Procedimentos Experimentais.....	12
3.4.1. Confecção das Membranas Difusivas de Gel de Agarose .....	12
3.4.2. Preparação das Membranas de Ligação .....	12
3.4.3. Estudo de Adsorção nas Membranas de Ligação.....	13
3.4.4. Planejamento Fatorial com Triplicata no Ponto Central .....	13
3.4.5. Estudos de Dessorção .....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
4.1. Estudo de Adsorção nas Membranas de Ligação.....	16
4.2. Planejamento Fatorial com Triplicata no Ponto Central .....	17
4.3. Estudos de Dessorção .....	19
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS .....	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRONIMOS

ALC	Agente de ligação cruzada
APTES-MAA	Aminopropiltriétoxissilano-Ácido metacrílico, monômero híbrido utilizado na confecção do HMIP
C18	Sílica-octadecil
DBL	Camada limite de difusão
DGT	Gradientes Difusivos em Filmes Finos
HLB	Balanco Hidrofílico e Lipofílico
HMIP	Polímero híbrido molecularmente impresso
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IR	Iniciador radicalar
MF	Monômero funcional
MIP	Polímero molecularmente impresso
MM	Molécula molde
NIP	Polímero não impresso
o-DGT	Gradientes Difusivos em Filmes Finos para compostos orgânicos
POICS	Amostrador Integrado para Compostos Orgânicos Polares
PRC	Composto de desempenho e referência
SAC	Sacarina
SPE	Extração em Fase Sólida
SPMD	Dispositivo baseado em membranas semipermeáveis

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Dados do experimento: matriz de planejamento $2^2$ com triplicata no ponto central na sua forma codificada.....	14
---	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura Molecular da Sacarina .....	1
Figura 2: Esquema do dispositivo de DGT: (a) filtro protetor (b) membrana difusiva (c) membrana de ligação.....	5
Figura 3: Princípio e estrutura do DGT, adaptado de Chen et al. (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012).....	6
Figura 4: Esquema genérico da síntese do MIP (FIGUEIREDO; DIAS; ARRUDA, 2008) .....	7
Figura 5: Membranas difusivas de gel de agarose.....	12
Figura 6: Membrana de ligação antes e depois de ser seccionada.....	13
Figura 7: Gráfico de adsorção, concentração de SAC adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) vs massa de SAC adsorvida ( $\mu\text{g}$ ). .....	16
Figura 8: Gráfico de Pareto dos Efeitos dos Fatores Estudados.....	18
Figura 9: Cavidade do HMIP proposta (DOURADO et al., 2021).....	18
Figura 10: Superfície de resposta do planejamento fatorial $2^2$ com triplicata no ponto central de adsorção de SAC.....	19
Figura 11: Massa dessorvida de SAC em função do solvente .....	20
Figura 12: Massa dessorvida de SAC em função pH do solvente.....	21
Figura 13: Massa dessorvida de SAC em função do volume da alíquota de dessorção.....	21
Figura 14: Massa dessorvida de SAC em função do número de replicatas de dessorção.....	22
Figura 15: Massa dessorvida de SAC em função do tempo de dessorção .....	22

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Sacarina

A sacarina (SAC), Figura 1, é o edulcorante artificial mais antigo e o segundo mais empregado no mundo em medicamentos, bebidas e alimentos dietéticos devido ao seu baixo preço e alto poder adoçante, 400-500 vezes maior que a sacarose. No sentido de amenizar seu gosto residual amargo, a sacarina é geralmente associada a outros edulcorantes artificiais na sua formulação comercial (FATIBELLO-FILHO *et al.*, 1996; PRAVEENA; CHEEMA; GUO, 2019). Os estudos acerca da toxicidade da sacarina ainda são controversos, apesar do composto aumentar a incidência de câncer na bexiga em roedores, esses mesmos efeitos não são observados em seres humanos (WEIHRAUCH; DIEHL, 2004). Segundo a OMS, a dose diária máxima permitida de sacarina e seus sais de cálcio, sódio e potássio é de 5 mg/kg de peso corpóreo.

Quando consumida, a sacarina não é completamente metabolizada pelo corpo humano, sendo excretada de forma inalterada (ARBELÁEZ *et al.*, 2015). Pesquisas atuais indicaram que essa substância vem sendo encontrada numa faixa de concentração de  $\text{ng-}\mu\text{g L}^{-1}$  em águas superficiais, residuais e subterrâneas ao redor do mundo, principalmente devido a sua alta estabilidade (ARBELÁEZ *et al.*, 2015; SCHEURER; BRAUCH; LANGE, 2009; TRAN *et al.*, 2014; VAN STEMPTVOORT *et al.*, 2011). Tal constatação pode, dentre outros aspectos, indicar tratamento inadequado e/ou aporte ilegal de esgoto (RICHARDSON; TERNES, 2018).

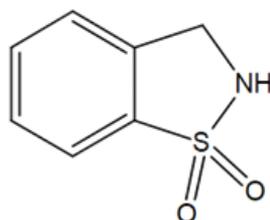


Figura 1: Estrutura Molecular da Sacarina

### 1.2. Sacarina como Contaminante Emergente de Águas

O consumo dos edulcorantes artificiais vem crescendo, devido a busca de estilos de vida mais saudáveis, para controle do peso a partir de dietas, controle da diabetes e prevenção da cárie dentária, dessa forma, esses compostos têm sido inseridos e detectados em diferentes matrizes aquáticas (ARBELÁEZ *et al.*, 2015). Os adoçantes

artificiais, incluindo a sacarina, ainda não estão incluídos nos programas de monitoramento de qualidade das águas e também não existe tratamento específico para essas substâncias, o que motivou sua recente inclusão no rol dos novos contaminantes emergentes de águas (KOKOTOU; ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS, 2012; PRAVEENA; CHEEMA; GUO, 2019).

Se denominam contaminantes emergentes uma grande quantidade de compostos (adoçantes artificiais, fármacos, pesticidas, drogas ilícitas, hormônios, produtos de higiene pessoal, entre outros) que têm sido detectados em diferentes matrizes aquáticas e ambientais, sendo eles tanto de origem antrópica quanto de ocorrência natural (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). Dessa maneira, o conhecimento dos riscos ao ecossistema associados à exposição desses compostos que ainda não estão contemplados nas legislações vigentes tem sido foco de vários estudos no Brasil (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

A maioria dos métodos analíticos desenvolvidos para a determinação de adoçantes artificiais focam em matrizes alimentícias, nas quais as concentrações desses compostos são elevadas ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (ORDÓÑEZ *et al.*, 2012). Um dos maiores desafios no estudo de contaminantes emergentes em águas superficiais é a dispersão do analito nesses corpos aquáticos, sendo necessárias etapas de preparo de amostra para adequar suas concentrações aos limites de quantificação dos instrumentos analíticos disponíveis. Os objetivos do preparo de amostra englobam a remoção de potenciais interferentes (*clean-up*), a pré-concentração, a extração do analito da matriz e quando necessário a conversão do analito em uma espécie mais adequada para detecção (TURIEL; MARTÍN-ESTEBAN, 2010).

A extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) é uma das técnicas de preparo de amostra mais aplicadas nesse intuito, na qual a amostra é percolada através de uma fase sólida adsorvente que retém o analito para posterior eluição e detecção, possibilitando também procedimentos de pré-concentração (ORDÓÑEZ *et al.*, 2012). A SPE demanda muito tempo de bancada, devido a necessidade da otimização dos parâmetros envolvidos para se obter um método robusto e reprodutível. Além disso, quando etapas de pré-concentração são necessárias, grandes volumes de amostra devem ser coletados para se atingir concentrações mensuráveis (RICHARDSON; TERNES, 2018; TURIEL; MARTÍN-ESTEBAN, 2010).

A amostragem é outra etapa importante na análise de contaminantes emergentes, a qual geralmente é feita pontualmente, mas essa etapa pode propagar mais erros na análise química, visto a necessidade de se submeter a amostra coletada à elaboração de uma sub-amostra, amostra laboratorial e ainda preparo de amostra, e essa grande quantidade de etapas podem levar à contaminação da amostra, à perda e/ou alteração do analito, resultando em uma incerteza considerável no resultado analítico (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012). Além disso, esse tipo de amostragem fornece apenas a concentração do analito momentânea e muitas vezes a concentração de um poluente varia com o tempo. Uma alternativa para essas dificuldades encontradas seria aumentar a frequência de amostragem ou instalar sistemas de amostragem automática, porém esses sistemas são de alto custo e raramente são aplicados em sistemas amplos de monitoramento (VRANA *et al.*, 2005).

Outra alternativa promissora como ferramenta para determinar uma ampla variedade de contaminantes de águas é a amostragem passiva, já que nesse tipo de amostragem o analito é coletado *in situ* sem afetar as propriedades do corpo aquático. (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012; CHEN, W. *et al.*, 2017; VRANA *et al.*, 2005). Essa técnica baseia-se no fluxo livre das moléculas do analito do meio amostrado para o meio de coleta devido a formação de um gradiente de concentração do analito entre os dois meios, o fluxo do analito de um meio para outro continua até o equilíbrio químico do sistema ser estabelecido ou até a amostragem ser interrompida, a amostragem ocorre sem a necessidade de nenhuma fonte de energia além do potencial químico (GÓRECKI; NAMIENIK, 2002; VRANA *et al.*, 2005).

### **1.3. Amostragem Passiva e DGT**

A amostragem passiva é uma técnica *in situ* que acumula de forma seletiva compostos lábeis para posterior quantificação em laboratório, fornecendo uma concentração média ponderada no tempo (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012). Essa técnica permite pré-concentrar o analito, aumentar a sensibilidade, reduzir e/ou eliminar interferências de matriz e economizar tempo e consumo de solventes (CHEN, W. *et al.*, 2017). Dependendo do tipo de amostrador, a massa acumulada indica a concentração do contaminante na qual o amostrador está em equilíbrio com o meio ou a concentração média ao longo do tempo de exposição (VRANA *et al.*, 2005).

Alguns exemplos de amostradores passivos utilizados para o monitoramento de contaminantes incluem os dispositivos baseados em Membranas Semipermeáveis (SPMDs, do inglês Semi-permeable Membrane Devices) que se baseiam na difusão de compostos orgânicos e hidrofóbicos dissolvidos e não ionizados; e os Amostradores Integrados para Compostos Orgânicos Polares (POCIS do inglês Polar Organic Chemical Integrative Sampler) que são usados para monitorar contaminantes hidrofílicos, como pesticidas, esteroides, hormônios, antibióticos etc. (VRANA *et al.*, 2005). Apesar destes dispositivos serem eficientes, calibrações prévias são necessárias já que a taxa de amostragem do analito pode variar com mudanças no fluxo da água, turbulência, temperatura e acúmulo de sólidos na superfície do amostrador (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012; HARMAN; ALLAN; VERMEIRSEN, 2012; VRANA *et al.*, 2005).

Dentre a gama de amostradores passivos, a técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT, do inglês *Diffusive Gradients in Thin-films*), vem sendo extensivamente aplicada devido a sua vantagem de dispensar calibração e ser praticamente independente das condições hidrodinâmicas do ambiente aquático (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012). A maioria dos estudos aplicando o DGT foram desenvolvidos para determinação de metais, nutrientes e outros compostos inorgânicos, sendo sua aplicação para compostos orgânicos (o-DGT) introduzida por Chen *et al.* em 2012 na amostragem de antibióticos (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012). Desde então, a aplicação dos o-DGT para a amostragem de contaminantes emergentes vem recebendo maior interesse.

O amostrador DGT (Figura 2) é um dispositivo robusto de plástico que consiste em uma camada de difusão e uma camada de ligação (DONG *et al.*, 2014), por onde ocorre o mecanismo de transferência de massa por diferença de concentração. De acordo com a primeira lei de difusão de Fick, o analito migra de uma região mais concentrada a partir da camada de difusão, composta por um filtro protetor (a) e uma membrana difusiva (b), para uma região mais diluída, a camada de ligação (c), onde se acumula. Assim, o gradiente de concentração estabelecido gera um fluxo de espécies químicas que entra em equilíbrio e estabiliza a concentração por toda extensão da solução. Essa técnica dispensa calibração devido ao fato da difusão do analito ser resultante apenas do gradiente de concentração (ZHANG; DAVISON, 1999).

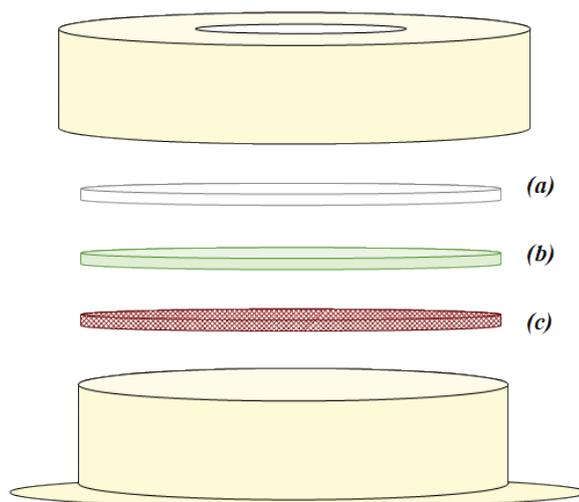


Figura 2: Esquema do dispositivo de DGT: (a) filtro protetor (b) membrana difusiva (c) membrana de ligação

A Figura 3 ilustra a estrutura e o princípio do amostrador DGT, na qual  $C_b$  descreve a concentração do analito no interior da solução;  $\Delta g$  é a espessura da camada de difusão, e  $\delta$  é a espessura da camada limite de difusão DBL (do inglês, *diffusive boundary layer*). Uma fina camada formada entre a superfície sólida da camada difusiva do DGT e o interior da solução, a velocidade tangencial varia de um alto valor no interior da solução para nula na superfície do dispositivo, e o transporte de massa é controlado apenas pela difusão molecular (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012; ZHANG; DAVISON, 1995). A espessura da DBL depende da velocidade do fluxo da água, podendo afetar a amostragem, para minimizar esses efeitos a espessura da camada difusiva  $\Delta g$  deve ser muito maior do que a espessura  $\delta$  (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012; ZHANG; DAVISON, 1999).

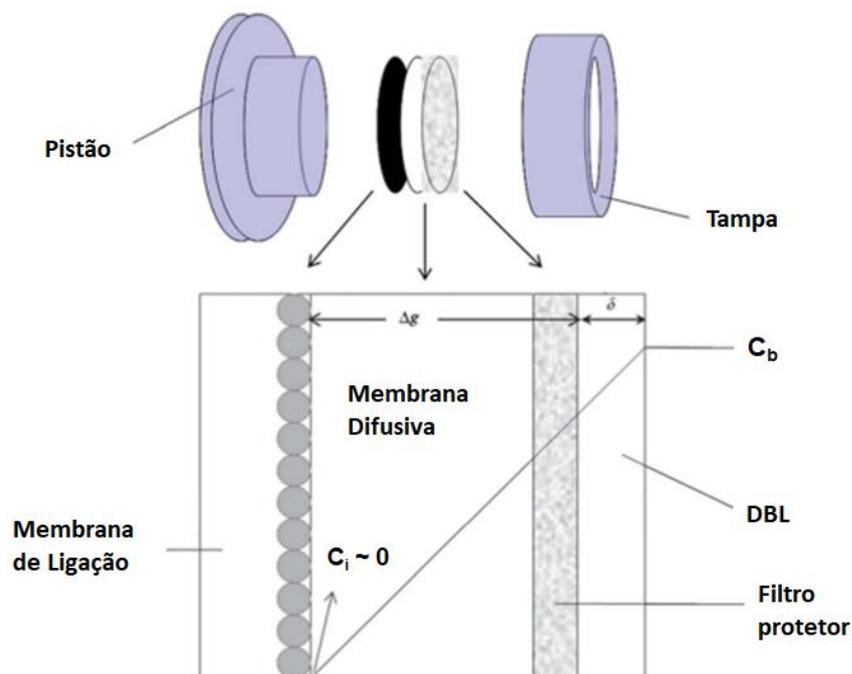


Figura 3: Princípio e estrutura do DGT, adaptado de Chen et al. (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012)

Nesse contexto, fica claro que a escolha de um adsorvente seletivo e com alta capacidade de sorção, para compor a membrana de ligação, é fundamental para garantir a sorção linear dos analitos nos dispositivos DGT a longo prazo sem a saturação da fase adsorvente (CUI *et al.*, 2020). Muitos adsorventes foram relatados para a determinação de contaminantes emergentes empregados como fases ligantes em o-DGT, dentre estes estão inclusos C18, XAD-2, XAD-18, carvão ativado e géis a base de HLB (CUI *et al.*, 2020). Entretanto, esses adsorventes são geralmente aplicados para extração de classes de compostos e não para moléculas específicas, o que acaba proporcionando a co-extração de interferentes, incluindo matéria orgânica dissolvida nas matrizes aquáticas, que podem saturar a membrana de ligação no amostrador (CUI *et al.*, 2020). Dessa maneira, o uso de fases sólidas mais seletivas, como os Polímeros Molecularmente Impressos (MIP) pode aprimorar a separação do analito do meio pela formação de interações específicas e seletivas com o analito alvo (DONG *et al.*, 2014).

#### 1.4. Polímeros Molecularmente Impressos

Polímeros Molecularmente Impressos são materiais sintéticos com sítios de reconhecimento específico, complementares ao analito alvo (*template* ou molécula

molde, MM) em tamanho, formato e grupos funcionais. A seletividade inerente ao MIP advém da síntese do polímero exclusiva para a MM de interesse (PICHON; CHAPUIS-HUGON, 2008; TURIEL; MARTÍN-ESTEBAN, 2010).

Os sítios seletivos para a MM são formados a partir de uma complexação reversível entre a MM e um monômero funcional (MF), Figura 4, utilizando um agente de ligação cruzada (ALC) para o controle da morfologia do polímero e estabilização dos sítios de ligação e um iniciador radicalar (IR) para iniciar e manter a reação de polimerização a partir de radicais livres. A síntese ocorre em solvente porogênico que deve ser capaz de solubilizar os reagentes da síntese, mas não interferir na interação MM-MF. Uma vez formado o polímero, a MM é extraída formando então cavidades tridimensionais de ligação específica e reversível para a MM (FIGUEIREDO; DIAS; ARRUDA, 2008; PICHON; CHAPUIS-HUGON, 2008; TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005). Concomitante a síntese dos MIPs é realizada a síntese do polímero controle, NIP (do inglês, *Non Imprinted Polymer*), a qual envolve o mesmo procedimento da síntese do MIP sem adição da MM.

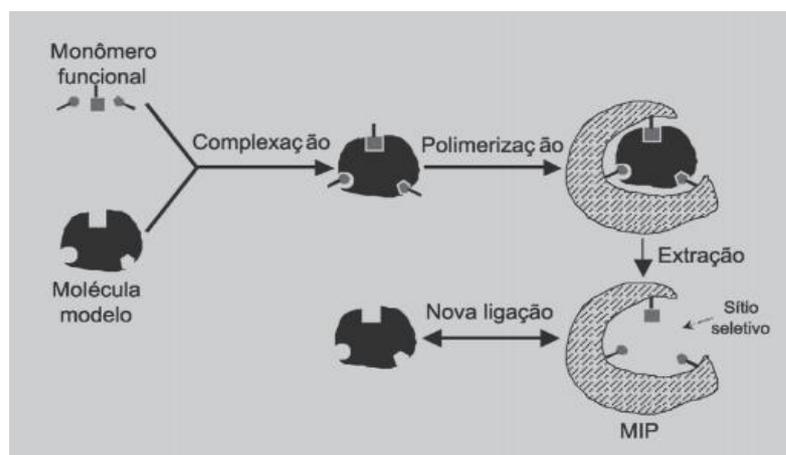


Figura 4: Esquema genérico da síntese do MIP (FIGUEIREDO; DIAS; ARRUDA, 2008)

Existem vários métodos de síntese dos MIPs, sendo o método em “*bulk*” ou bloco o método de preparo universal devido a sua simplicidade, porém o polímero obtido por esse tipo de síntese geralmente apresenta partículas de tamanhos e formatos irregulares, gerados pela maceração do bloco formado que também pode destruir parte dos sítios de interação específica. Dessa forma, outros métodos de preparo dos MIPs foram empregados em substituição à síntese em *bulk*, neles estão incluídos a polimerização por suspensão, precipitação e polimerização sobre a superfície de um suporte sólido (TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005).

Devido à alta seletividade e versatilidade dos MIPs, esses compostos vêm sendo aplicados em vários campos de estudo, como por exemplo na biologia, na medicina, na química ambiental e forense, em processos de extração como a Extração em Fase Sólida Molecularmente Impressa (MISPE) (ZAIDI, 2017), e também como adsorvente em amostradores o-DGT para a determinação de contaminantes emergentes de águas (DONG *et al.*, 2014).

O MIP utilizado nesse trabalho foi um MIP híbrido (HMIP) sintetizado por suspensão, a qual consiste em uma polimerização heterogênea baseada na formação de uma suspensão contendo os reagentes da síntese em uma fase contínua, geralmente água. Desta forma, há formação de partículas menores, esféricas e homogêneas (PICHON; CHAPUIS-HUGON, 2008). MIP híbridos (HMIPs) têm ganhado destaque devido a sua compatibilidade com diferentes matrizes, decorrente de suas características orgânicas e inorgânicas (CASARIN *et al.*, 2017), são formados materiais porosos com alta permeabilidade, excelente resistência mecânica, característica dos esqueletos de sílica, e têm boa tolerância a solventes orgânicos, esse tipo de síntese é possível utilizando um MF híbrido previamente sintetizado (YAN *et al.*, 2014). Esse HMIP foi escolhido para ser aplicado como fase ligante em membranas de ligação de amostradores DGT com a finalidade de aliar as vantagens da técnica DGT, como a capacidade de pré-concentrar o analito e obter uma concentração média ponderada no tempo, com as características descritas acima do HMIP sintetizado por suspensão.

Essa abordagem foi explorada pioneiramente nos estudos de Dong e colaboradores em 2014, esses pesquisadores aplicaram um MIP para adsorção de 4-clorofenol, um poluente orgânico potencialmente carcinogênico, como adsorvente em um gel de poliacrilamida e utilizando uma membrana de nylon como camada difusiva. Foi feito o monitoramento desse poluente em águas residuais industriais não tratadas de uma fábrica de produtos químicos, foi possível detectar concentrações desse composto de  $4,6 \pm 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , obtidas a partir do tempo de difusão e da massa do analito acumulado na membrana de ligação (DONG *et al.*, 2014).

Um dispositivo DGT utilizando MIP para o antibiótico ciprofloxacina como membrana de ligação para a amostragem seletiva *in situ* também foi investigado por Li e colaboradores, no qual foi possível estimar as concentrações desse antibiótico em águas superficiais em  $0,52 \pm 0,3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , com recuperações de 96,1-102,0% (LI *et*

*al.*, 2018). Cui e colaboradores ampliaram a aplicação de membranas de ligação contendo MIP em dispositivos o-DGT, amostrando 20 antibióticos pertencentes a 2 classes diferentes, fluoroquinolonas e sulfonamidas, foi possível detectar 3 sulfonamidas em efluentes de uma estação de esgoto (ETE) com concentrações variando de 25,50 a 117,58 ng L<sup>-1</sup>, valores consistentes com os resultados obtidos pela amostragem pontual, demonstrando que MIP-DGT é uma ferramenta eficiente para o monitoramento de antibióticos em nível traço (CUI *et al.*, 2020).

Cabe salientar que o uso de MIP em o-DGT é muito recente e existe uma quantidade limitada de trabalhos aplicando esse tipo de abordagem. Dessa forma, a aplicação de MIP em membranas de ligação para a SAC é promissora e inovadora, e não existe até os dias atuais nenhum trabalho publicado na literatura para a determinação de nenhum composto da classe dos edulcorantes artificiais.

## 2. OBJETIVOS

Diante do contexto apresentado, o objetivo principal desse trabalho foi a confecção de uma membrana de ligação de HMIP para futura aplicação em um dispositivo de amostragem passiva o-DGT para a extração e determinação de SAC em águas superficiais. O HMIP será imobilizado em agarose e um gel de agarose será usado como membrana difusiva.

Os objetivos específicos descritos nesse presente trabalho de conclusão de curso envolvem os estudos das condições adsorptivas e dessorptivas da membrana de ligação na sorção de SAC, a partir do cumprimento das seguintes metas:

- Confeccionar as membranas difusiva e de ligação;
- Investigar as condições adsorptivas da membrana de ligação a partir de diferentes proporções de HMIP imobilizadas na membrana de ligação;
- Otimizar as condições de pH e força iônica para a sorção de sacarina a partir de um planejamento fatorial  $2^2$  com triplicata no ponto central.
- Determinar as variáveis de dessorção nas membranas de ligação: solvente de dessorção, pH de dessorção, volume do solvente de dessorção, número de eluições e tempo de dessorção.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Reagentes Químicos

- Metanol, Tedia grau HPLC 99,9%;
- Sacarina, Sigma Aldrich 98%;
- Ácido Clorídrico, Bio-Grade 37%;
- Hidróxido de Sódio, Sigma Aldrich 98%;
- Agarose, UltraPure;
- Nitrato de Sódio, Cromoline 99%;
- Acetonitrila, Tedia grau HPLC 99,9%;
- HMIP sintetizado previamente pelo grupo de pesquisa AQQUA (DOURADO *et al.*, 2021) por suspensão.

#### 3.2. Equipamentos

- Balança analítica (Shimadzu, precisão 0,0001 g);
- Banho ultrassônico (Ultra Cleaner 1400);
- Agitador de Frascos com Movimento Orbital (Ethik Technology);
- Centrífuga de bancada (Kinddly, KC5, velocidade máxima 4.000 rpm);
- Capela de Fluxo Unidirecional Laminar vertical (Veco);
- Concentrador com fluxo de N<sub>2</sub> (Tecnal, TE-019);
- Homogeneizador Hematológico (Labor, modelo SP 260H SP);
- Amostrador passivo DGT.

#### 3.3. Condições do Método Cromatográfico

Para separação dos compostos foi utilizado um cromatógrafo HPLC (Shimadzu, PerkinElmer) composto por uma bomba de alta pressão, modelo LC-20AD; Detector Flexar PDA; válvula de injeção (alça de amostragem de 20 µL); Software Chromera, verison 3.4.0.5712; com uma coluna cromatográfica (Bownlee Analytical, C18 diâmetro médio de 5 µm, 250 x 4,6 mm, PerkinElmer).

A separação cromatográfica aplicada nesse trabalho foi estabelecida anteriormente (DOURADO *et al.*, 2021) e consistia em uma corrida cromatográfica isocrática com fluxo de 0,8 mL min<sup>-1</sup> de fase móvel tampão fosfato pH 4 e acetonitrila

95:5 (V/V) de 0-15 min, a SAC foi quantificada na região do ultravioleta (UV) em 190 nm.

### 3.4. Procedimentos Experimentais

#### 3.4.1. Confeção das Membranas Difusivas de Gel de Agarose

As membranas difusivas para o-DGT foram confeccionadas em uma proporção de 1,5% (m/V) baseado em trabalhos da literatura utilizando o-DGT para a amostragem de antibióticos (CHEN, C. E. *et al.*, 2013; CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012) com algumas adaptações. Foram dissolvidos 0,18 g de agarose em 12 mL de água ultrapura (Milli-Q), essa mistura foi aquecida em forno microondas até a total dissolução da agarose percebida quando a solução se tornasse límpida. A solução foi vertida, com o auxílio de uma micropipeta, entre placas de vidro pré-aquecidas na estufa contendo espaçadores de espessura 0,8 mm e deixada na capela de fluxo laminar até atingir a temperatura de gelificação, de 2-3 horas. Após o resfriamento, o gel de agarose foi seccionado em discos com diâmetro de 2,5 cm (Figura 5) os quais foram imersos em uma solução de nitrato de sódio  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  e armazenados na geladeira.

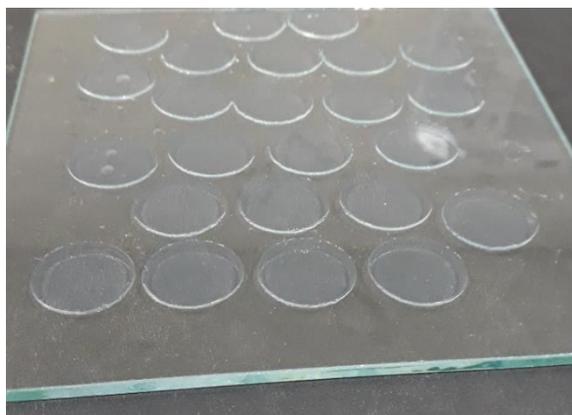


Figura 5: Membranas difusivas de gel de agarose

#### 3.4.2. Preparação das Membranas de Ligação

Foram imobilizadas proporções de 5 e 10% (m/V) de HMIP no gel de agarose 1,5% (m/V) para a confecção das membranas de ligação. A solução de agarose foi preparada de acordo com o item 3.4.1 e após o aquecimento foram adicionados 0,6 e 1,2 g de HMIP, para as proporções de 5 e 10% (m/V) respectivamente, sob agitação

suave com um bastão de vidro até a homogeneização. A mistura foi vertida, com o auxílio de uma micropipeta, entre placas de vidro pré-aquecida contendo espaçadores de espessura 0,5 mm e deixada na capela de fluxo laminar até atingir a temperatura de gelificação, de 2-3 horas. Após o resfriamento, o gel de agarose com HMIP imobilizado foi seccionado em discos com diâmetro de 2,5 cm (Figura 6) os quais foram imersos em uma solução de nitrato de sódio  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  e armazenados na geladeira.

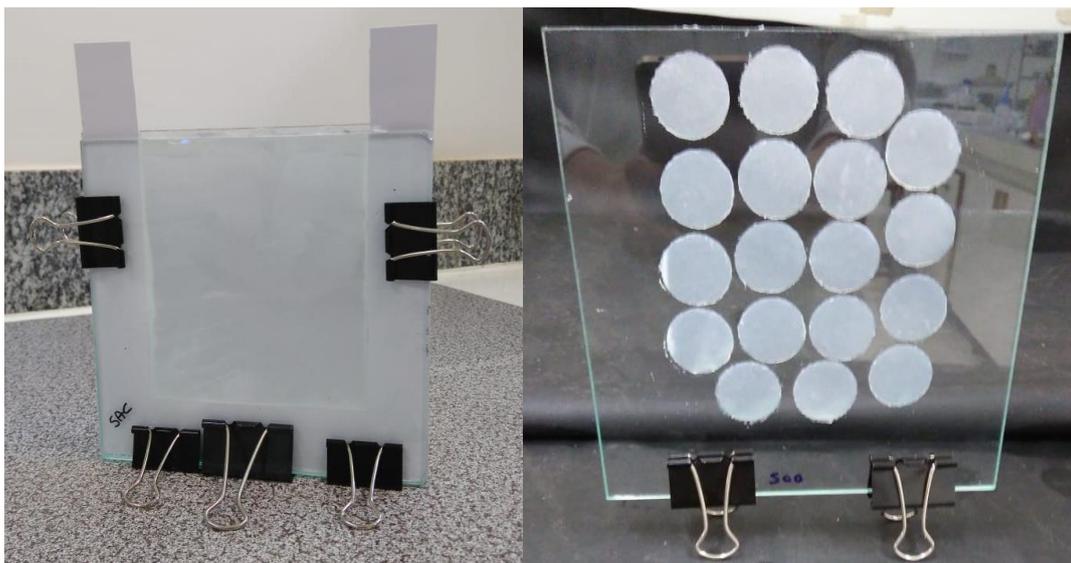


Figura 6: Membrana de ligação antes e depois de ser seccionada

### 3.4.3. Estudo de Adsorção nas Membranas de Ligação

Membranas de ligação contendo as proporções de 5 e 10% (m/V) de HMIP foram adicionados separadamente a tubos Falcon de 15 mL contendo 10 mL de soluções de concentração variada de SAC ( $500$ ;  $1000$ ;  $1500$  e  $2000 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e força iônica de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  a partir de uma solução de  $\text{NaNO}_3$ . Os procedimentos foram realizados em triplicata para cada combinação de SAC e HMIP. Os frascos foram deixados sob agitação em um homogeneizador hematológico por um período de 96 horas e as soluções foram centrifugadas por 5 minutos a  $4000 \text{ rpm}$  e filtradas através de uma membrana de PTFE  $0,22 \mu\text{m}$ . A concentração de SAC remanescente no sobrenadante de adsorção foi determinada por HPLC-UV segundo o método descrito no item 3.3.

### 3.4.4. Planejamento Fatorial com Triplicata no Ponto Central

Foram estudadas de maneira multivariada a influência de dois fatores, pH (5 e 9) e força iônica ( $0,01$  e  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), na adsorção de SAC na membrana de ligação, que

é a resposta de interesse. Foi empregado um planejamento fatorial  $2^2$  com triplicata no ponto central (PC). Assim os seguintes fatores foram determinados: (1) pH, (2) força iônica. Os fatores foram estudados em dois níveis (-1 e +1) e o PC (0) foi determinado em pH 7 e força iônica  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  conforme a Tabela 1. Os 7 experimentos foram conduzidos de maneira aleatória para a modelagem da superfície de resposta.

As membranas de ligação foram imersas em 20 mL de solução  $2000 \mu\text{g L}^{-1}$  de SAC em tubos Falcon de 45 mL que foram mantidos em agitação orbital 100 rpm por 96 horas. O ajuste do pH foi realizado utilizando soluções diluídas de HCl e NaOH e aferido com papel indicador universal, a força iônica foi empregada a partir da diluição de uma solução concentrada de  $\text{NaNO}_3$ .

Tabela 1: Dados do experimento: matriz de planejamento  $2^2$  com triplicata no ponto central na sua forma codificada

<b>Fatores</b>	<b>Níveis</b>		
	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>1 - pH</b>	5	7	9
<b>2 - Força Iônica</b>	0,01	0,05	0,1
<b>Ensaio</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	
<b>1</b>	-1	-1	
<b>2</b>	1	-1	
<b>3</b>	-1	1	
<b>4</b>	1	1	
<b>5</b>	0	0	
<b>6</b>	0	0	
<b>7</b>	0	0	

### 3.4.5. Estudos de Dessorção

Os estudos de dessorção foram conduzidos com o objetivo de otimizar as condições de eluição da SAC das membranas de ligação. Todos os experimentos foram realizados adicionando 20 mL de solução SAC  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em pH 7 e força iônica  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , empregada a partir de uma solução concentrada de  $\text{NaNO}_3$ , em Erlenmeyers de 250 mL contendo a membrana de ligação (10% HMIP, m/v), os quais foram mantidos sob agitação orbital a 100 rpm por 7 dias.

Os seguintes parâmetros de dessorção foram estudados em sequência:

a. Tipo de solvente:

Após a etapa de adsorção, foi realizada a dessorção de SAC com base nos estudos de Chen et al (CHEN, C. E. *et al.*, 2013). As membranas de ligação foram transferidas para tubos Falcon no quais foram adicionados separadamente 3 mL dos seguintes solventes: acetonitrila (ACN), metanol (MeOH), ACN/MeOH (3:1, v/v), MeOH/ACN (3:1 v/v) e MeOH/ACN (1:1, v/v). Em seguida, a eluição foi conduzida em banho ultrassônico por 20 minutos. O procedimento foi repetido sequencialmente com mais duas alíquotas de 3 mL, as porções de cada solvente foram combinadas e completamente evaporadas utilizando concentrador com aquecimento em torno de 60~80 °C. O extrato seco foi redissolvido em 2 mL de água ultrapura, filtrado através de uma membrana de PFTE 0,22 µm e por fim, a SAC dessorvida foi determinada por HPLC-UV segundo o método descrito no item 3.3.

b. pH do solvente de dessorção:

Após a seleção do solvente de eluição mais adequado, foram realizados testes variando o pH da solução de dessorção, foram avaliados os valores de pH 3, 5, 7 e 9.

c. Volume do solvente de dessorção

Em seguida foi avaliado o volume de solvente utilizado em cada alíquota de dessorção, foram avaliados os valores de 1, 2, 3, 4 e 5 mL.

d. Tempo de dessorção

O tempo de equilíbrio de dessorção da SAC foi avaliado mantendo a solução em banho ultrassônico por 2, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos.

e. Número de eluições

Com as condições otimizadas nas etapas anteriores, foram avaliados o número de alíquotas de solvente de dessorção: 1, 2, 3 e 4 porções de solvente.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As membranas de ligação confeccionadas apresentaram aspecto uniforme e homogêneo em relação a distribuição do HMIP (Figura 6), esse aspecto qualitativo indica compatibilidade química e afinidade do polímero com o gel de agarose. O uso de um MIP de natureza híbrida é vantajoso pela interação e compatibilidade alta desse material não somente com o gel de agarose, mas também com a matriz aquosa de águas superficiais na qual deseja-se aplicar a amostragem passiva DGT (YAN *et al.*, 2014).

### 4.1. Estudo de Adsorção nas Membranas de Ligação

Esse estudo buscou avaliar o efeito da massa de HMIP nas membranas de ligação em função da quantidade de SAC adsorvida. As membranas contendo 10% do HMIP adsorveram maior massa de SAC, resultando na retenção de até 1,3 vezes mais SAC que membranas com 5% (Figura 7), esse efeito era esperado devido a quantidade de massa ser proporcional à quantidade de sítios de interação específica com o analito. Assim, os estudos subsequentes foram conduzidos utilizando membranas com 10% da fase ligante.

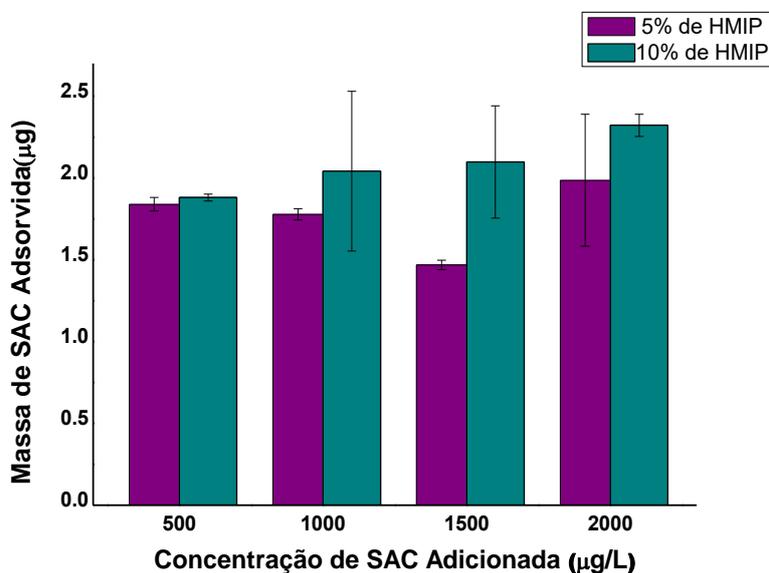


Figura 7: Gráfico de adsorção, concentração de SAC adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) vs massa de SAC adsorvida ( $\mu\text{g}$ ).

## 4.2. Planejamento Fatorial com Triplicata no Ponto Central

Para avaliar a viabilidade da aplicação do gel de agarose com HMIP imobilizado como membrana de ligação para extração de SAC no amostrador DGT foi necessário estudar a adequação da membrana às condições químicas presentes em matrizes aquáticas. O pH de águas naturais encontra-se situado na faixa de 5–9 e a força iônica entre 0,01 mol L<sup>-1</sup> para águas doces e 0,5 mol L<sup>-1</sup> para água do mar (CHEN, C. E.; ZHANG; JONES, 2012). Diante dessas condições, o desempenho de adsorção do gel de ligação pode ser influenciado pelo ambiente onde será aplicado. Como a matriz de estudo é água superficial natural, espera-se que a variação na força iônica seja de 0,01 a 0,1 mol L<sup>-1</sup> e o pH de 5-9. Assim, esses valores foram estabelecidos como os níveis dos fatores na otimização multivariada. Os resultados do planejamento fatorial serão utilizados para determinar a interação entre o pH e a força iônica e como a resposta (concentração de SAC adsorvida em mg L<sup>-1</sup>) depende desses fatores, já que o ponto central (média entre os dois níveis) possibilita a modelagem do sistema.

O tratamento dos dados foi realizado a partir do software *Statistica*®. Observa-se no gráfico de Pareto (Figura 8) que ambos os fatores foram significativos na adsorção de SAC num nível de 95% de confiança. O efeito pH (1) foi mais significativo na adsorção de SAC, apresentando contribuição negativa para a resposta, ou seja, quanto menor o pH maior a massa adsorvida. Propõe-se que a complexação entre a SAC e a cavidade do HMIP se dê por ligações de hidrogênio (Figura 9) e para que todos os sítios de interação da cavidade do HMIP estejam disponíveis é necessário a protonação dos grupos amida advindo do APTES-MAA (pKa = 10,53), monômero híbrido utilizado na síntese do HMIP (DOURADO *et al.*, 2021), dessa forma o pH deve estar de ácido a neutro. O fator força iônica (2), teve efeito menos significativo e contribuição negativa para a resposta, no nível de confiança e faixa de concentração estudada, estima-se que pode estar relacionado a competição dos íons (Na<sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) com a SAC a partir de interações eletrostáticas com o HMIP, influenciando na sua adsorção. Esse efeito não é tão expressivo devido à alta seletividade do polímero advinda da sua síntese. Além disso, não teve efeito significativo na interação dos dois fatores (1) e (2) devido à natureza neutra do sal NaNO<sub>3</sub>.

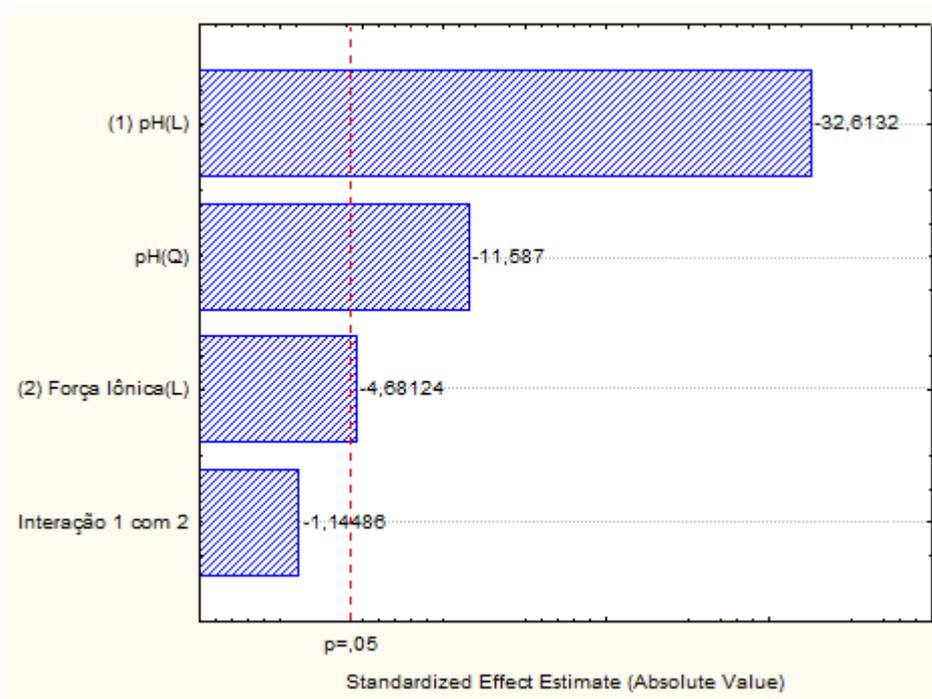


Figura 8: Gráfico de Pareto dos Efeitos dos Fatores Estudados

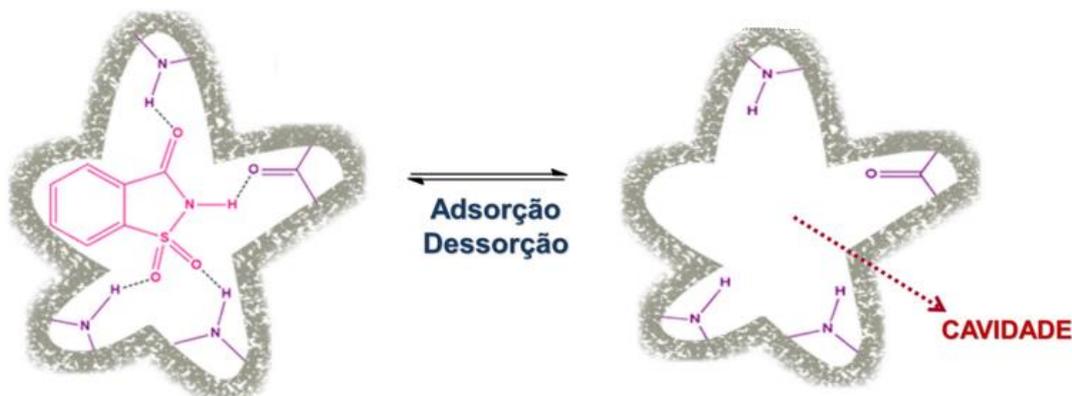


Figura 9: Cavidade do HMIIP proposta (DOURADO et al., 2021)

Assim, pode-se observar também a partir da superfície de resposta plotada na Figura 10, que o ponto de maior adsorção da SAC nas membranas de ligação compreende a faixa de pH 5-7 e de força iônica 0,01-0,1 mol L<sup>-1</sup>. Foi escolhido o ponto inferior (1) de força iônica e o PC (0) de pH como ponto ótimo de adsorção que será utilizado nos estudos subsequentes. Apesar da adsorção de SAC estar mais favorecida em pH ácido, devido à maior quantidade de sítios de interação específica disponíveis, foi preferido escolher pH neutro (7) para melhor adequação às condições de pH e força iônica das águas naturais doces nas quais será aplicado a amostragem passiva DGT.

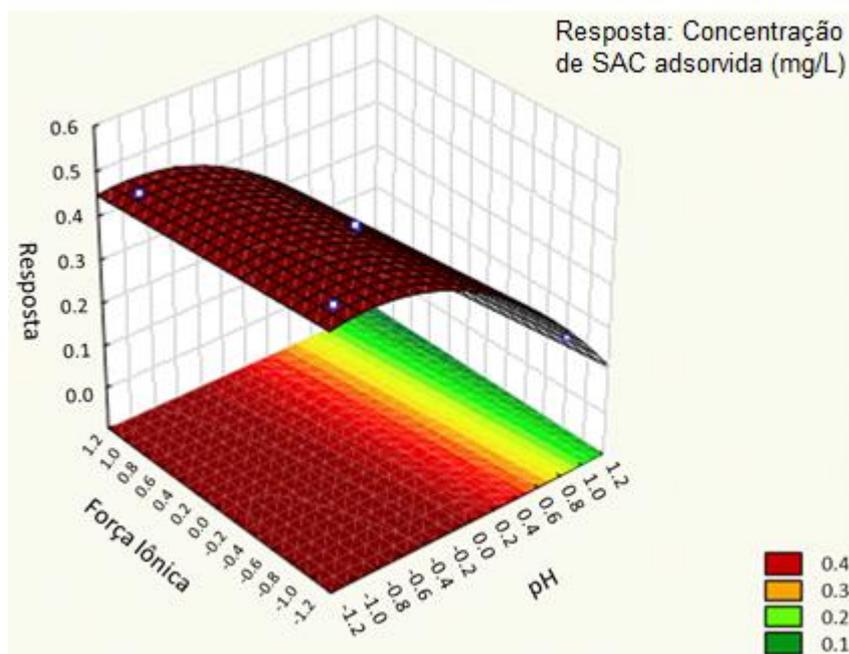


Figura 10: Superfície de resposta do planejamento fatorial  $2^2$  com triplicata no ponto central de adsorção de SAC

### 4.3. Estudos de Dessorção

Assim como é importante que a membrana de ligação tenha uma alta capacidade de sorção do analito, é necessário também estudar a dessorção dessa substância da fase ligante de forma a maximizar o fator de eluição e a recuperação do analito. A mistura dos solventes MeOH/ACN (3:1, v/v) foi a que obteve uma maior recuperação de SAC (Figura 11), sendo capaz de desestabilizar e quebrar as interações entre a SAC e os grupos funcionais nas cavidades do HMIP, das quais se dão principalmente por ligações de hidrogênio (DOURADO *et al.*, 2021).

A força de eluição de um solvente  $\epsilon^0$  é um conceito que descreve o equilíbrio entre o soluto, o sorvente e o solvente, que também possibilita quantificar a polaridade de um solvente (KACZMARSKI; KOWALSKA; PRUS, 2003). A partir do valor da força de eluição de um solvente, pode-se escolher solventes que são miscíveis entre si, que irão possuir menor efeito de inchaço no material e que facilitará a transferência de massa da espécie adsorvida (SIMPSON, 2000). De acordo com a série eluotrópica examinada por Snyder (1968), os valores de  $\epsilon^0$  do metanol e da acetonitrila são respectivamente 0,95 e 0,65, ambos os solventes se encontram no topo da série sendo comumente utilizados como solvente de eluição na SPE e em estudos cromatográficos (SIMPSON, 2000). O metanol tem capacidade doadora e acceptora de ligação de hidrogênio, enquanto a acetonitrila, por ser um solvente aprótico, só tem

propriedades aceptoras (SIMPSON, 2000), dessa forma propõe-se que o MeOH tenha maior afinidade com a SAC formando ligações de hidrogênio que competem com os sítios específicos do HMIP. Assim a mistura mais eficiente para a dessorção de SAC, a partir do efeito sinérgico entre os solventes, tem uma maior proporção de MeOH (3:1, v/v). Além disso, estudos experimentais indicam que metanol e acetonitrila são miscíveis em qualquer proporção e que a sacarina é altamente solúvel em misturas de qualquer proporção entre esses solventes numa ampla faixa de temperatura (TONG *et al.*, 2020).

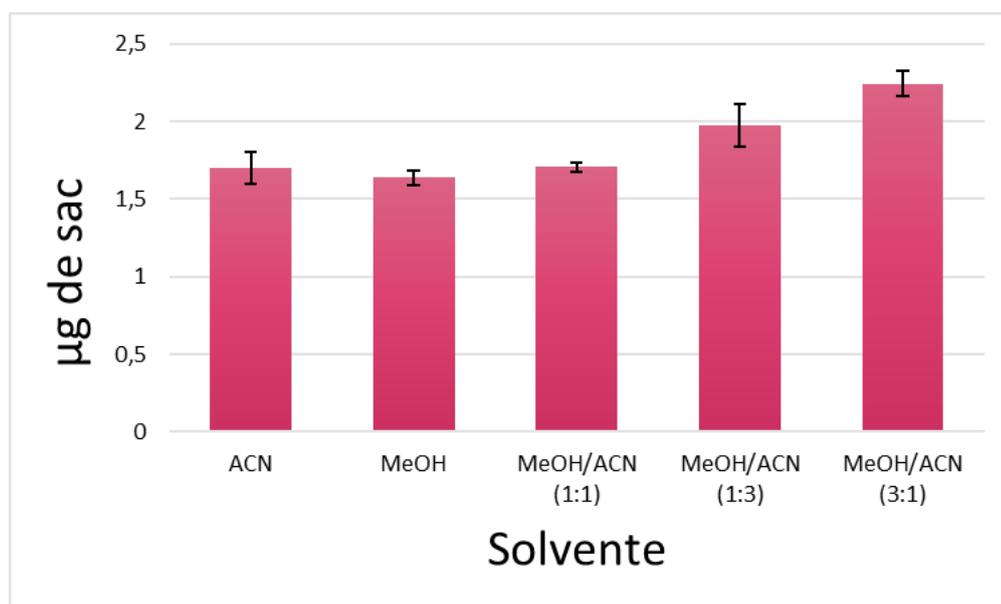


Figura 11: Massa desorvida de SAC em função do solvente

O pH do solvente de dessorção selecionado previamente que propiciou uma maior recuperação de SAC foi o pH 5 (Figura 12). A mistura metanol/ácido acético na proporção 9:1 (v/v) é comumente utilizada para remover a molécula molde após a síntese do MIP, essa mistura já foi utilizada como solvente de dessorção em membranas de ligação contendo MIP para a extração de 18 antibióticos sendo obtidas recuperações de 90-123% (CUI *et al.*, 2020). Dessa forma espera-se que o metanol em meio ácido tenha alta capacidade de dessorver a SAC. Já para a acetonitrila, em um estudo publicado para extração de SAC em leite em pó por SPE, esse solvente acidificado com uma solução de sulfato de amônio (pH~5) também possui boa performance na eluição com recuperações de 89-98% (HOU *et al.*, 2019). Como ambos solventes são bons extratores em meio ácido, propõe-se que a mistura em pH ácido (5) também tenha alta capacidade de dessorver a SAC das membranas de ligação contendo HMIP.

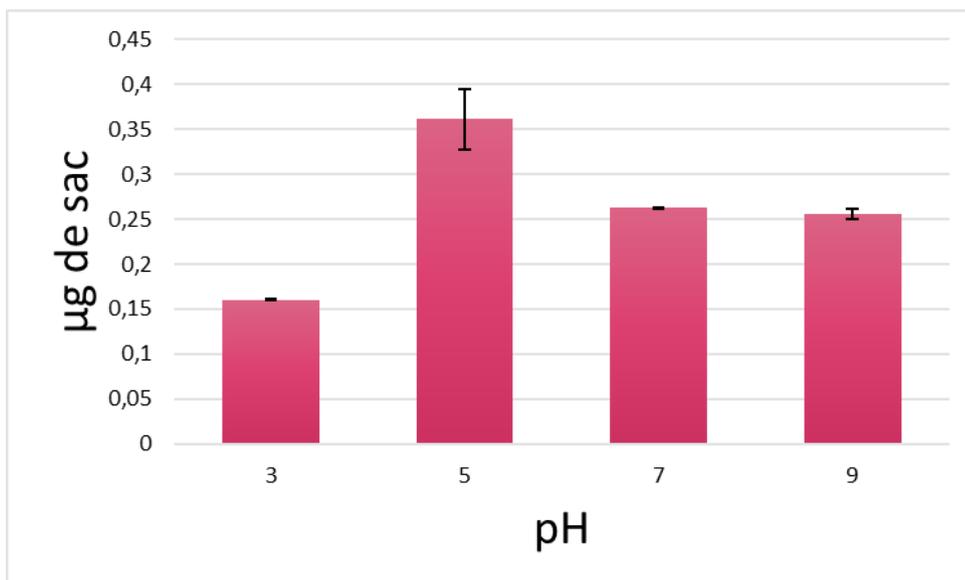


Figura 12: Massa desorvida de SAC em função pH do solvente

Após a definição do solvente que proporciona a maior desorção de SAC das membranas de HMIP (MeOH/ACN, 3:1 v/v, pH 5) foi estudado o número de replicatas de desorção e o volume de cada alíquota de desorção. De acordo com a Figura 13, a quantidade de SAC desorvida aumenta com o aumento do volume das porções do solvente de desorção até 3 mL, permanecendo praticamente constante após esse valor. Após 3 replicatas de desorção de 3 mL a massa recuperada também fica inalterada (Figura 14). De forma a consumir menos solvente orgânico e menos tempo de bancada, principalmente na etapa de evaporação do solvente, o uso de 3 alíquotas de 3 mL do solvente de desorção foi escolhido para os testes subsequentes.

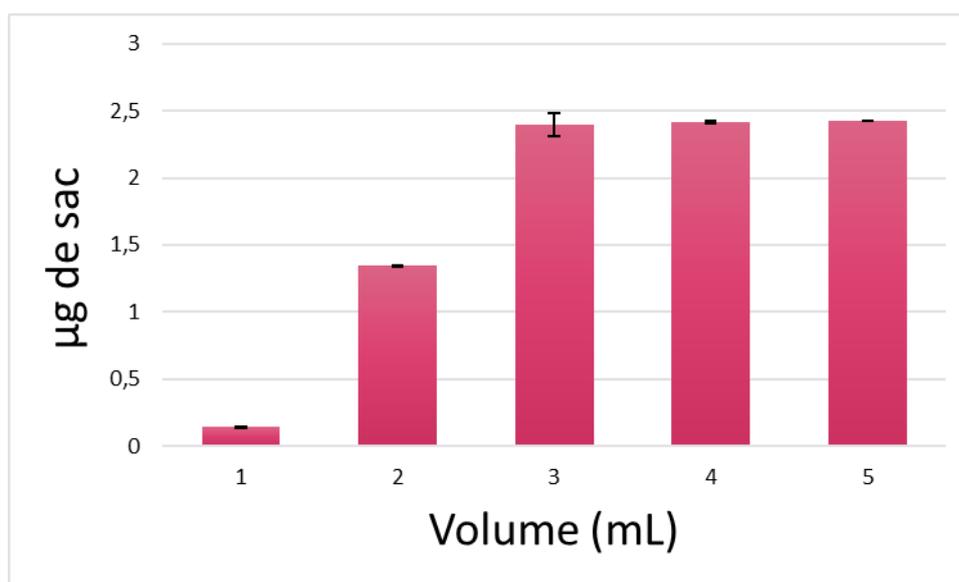


Figura 13: Massa desorvida de SAC em função do volume da alíquota de desorção

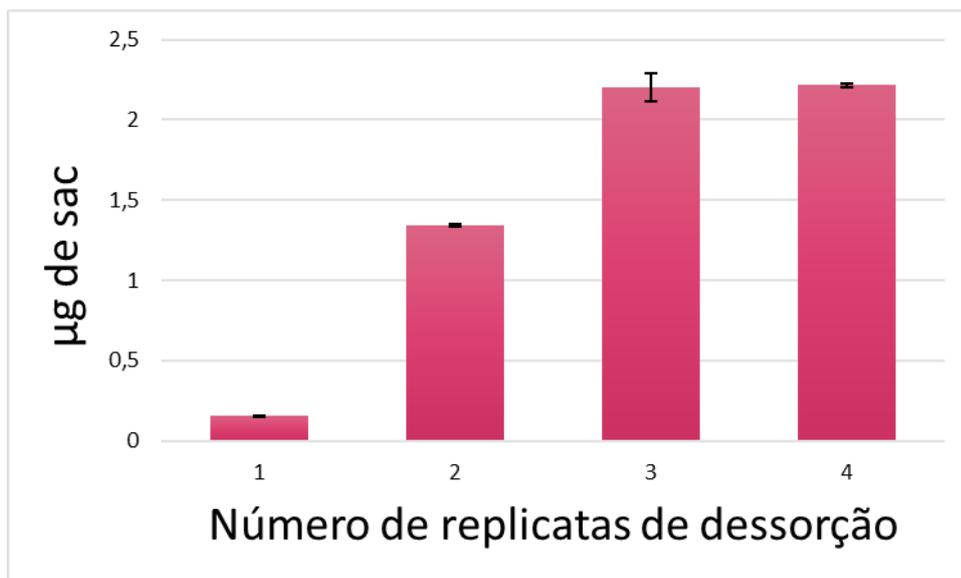


Figura 14: Massa dessorvida de SAC em função do número de replicatas de dessorção

A Figura 15 mostra o efeito da massa de SAC dessorvida em função do tempo de contato com o solvente de dessorção, resultando em uma maior quantidade de SAC dessorvida com o aumento do tempo. Esse resultado era de acordo com o esperado, devido aos processos que envolvem a quebra e a formação de ligações e o deslocamento da SAC sorvida da membrana de ligação para a fase líquida. A partir de 25 minutos a massa de SAC dessorvida começa a decair, indicando provavelmente que o analito é sorvido novamente na fase sólida. Como o tempo de 20 e 25 minutos não apresentaram diferença significativa, foi selecionado 20 minutos de sonicação como o tempo padrão na etapa de dessorção em comprometimento com o menor tempo de bancada e alta quantidade de massa dessorvida.

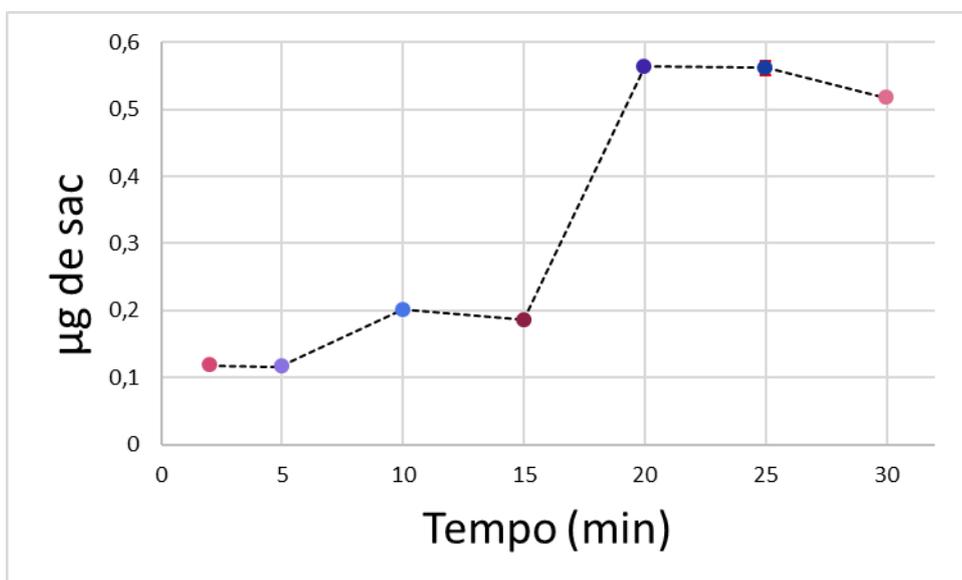


Figura 15: Massa dessorvida de SAC em função do tempo de dessorção

Os resultados obtidos a partir da delimitação das condições de adsorção e dessorção de SAC das membranas de adsorção contendo HMIP imobilizado, mostraram a eficiência de usar esse polímero para a interação específica como fase ligante na amostragem passiva desse analito. A máxima capacidade de sorção foi obtida com membranas de HMIP na proporção de 10% e, a partir de um planejamento fatorial  $2^2$  com triplicata no ponto central, o ponto ótimo de adsorção obtido foi força iônica de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  e pH 7. As condições que otimizaram a massa de SAC dessorvida foram: 3 eluições consecutivas de 3 mL de solvente (Metanol/Acetonitrila 3:1 (v/v), pH 5) com 20 minutos de sonicação.

## 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

A aplicação de um MIP híbrido, como fase ligante para SAC, na confecção de membranas de ligação para a aplicação em amostradores o-DGT foi realizada de forma pioneira. Devido à alta seletividade do HMIP para SAC, esse polímero foi escolhido como fase ligante a ser utilizado em dispositivo de amostragem passiva, DGT. A dispersão do HMIP no gel de agarose foi eficaz devido a composição híbrida desse polímero, que confere ao HMIP características hidrofílicas e lipofílicas. A proporção de HMIP na membrana de ligação que apresentou maior capacidade adsortiva foi a de 10% de polímero, o que proporcionou maior quantidade de material com sítios hábeis para interações específicas com a SAC, resultando na retenção de até 1,3 vezes mais SAC que membranas na proporção de 5%.

A melhor condição de adsorção, a partir de uma análise multivariada para reproduzir as condições das águas superficiais, foi força iônica de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  e pH 7, na qual a força iônica e o pH não indicam interferência no processo adsortivo da SAC na fase ligante. Os estudos de dessorção indicaram que o solvente mais adequado para extrair a SAC das membranas de ligação foi a mistura MeOH/ACN 3:1 (v/v) em pH 5, verificou-se que três eluições com 3 mL de solvente de dessorção com 20 min de sonicação em cada eluição proporcionou uma maior massa de SAC dessorvida.

Dessa forma conclui-se que a aplicação futura dessas membranas com MIP imobilizado como gel de ligação em amostradores passivos (DGT) para a detecção de SAC em águas superficiais apresenta-se como uma alternativa viável, promissora e inovadora. Devido à situação atual da pandemia Covid-19, não foi possível concluir todos os objetivos propostos para esse presente trabalho de conclusão de curso, a continuação desse projeto será inserida em projetos futuros do grupo de pesquisa.

Assim, as próximas fases desse projeto englobarão:

- ✓ Determinação do fator de eluição e do coeficiente de difusão;
- ✓ Ensaios em bancada com amostras de água do Lago Paranoá para a avaliação a interferência matriz no processo adsortivo da SAC no amostrador DGT;
- ✓ Aplicação do amostrador DGT *in situ* para a amostragem da SAC;
- ✓ Escrita e submissão de artigo científico.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARBELÁEZ, Paula *et al.* Determination of high-intensity sweeteners in river water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1393, p. 106–114, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.03.035>

CASARIN, Juliana *et al.* Poly(methacrylic acid)/SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> based organic-inorganic hybrid adsorbent for adsorption of imazethapyr herbicide from aqueous medium. **Reactive and Functional Polymers**, [s. l.], v. 121, p. 101–109, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.REACTFUNCTPOLYM.2017.10.023>. Acesso em: 2 jul. 2019.

CHEN, Chang Er *et al.* Evidence and recommendations to support the use of a novel passive water sampler to quantify antibiotics in wastewaters. **Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 47, n. 23, p. 13587–13593, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es402662g>

CHEN, Chang Er; ZHANG, Hao; JONES, Kevin C. A novel passive water sampler for in situ sampling of antibiotics. **Journal of Environmental Monitoring**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 1523–1530, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c2em30091e>

CHEN, Wei *et al.* DGT Passive Sampling for Quantitative in Situ Measurements of Compounds from Household and Personal Care Products in Waters. **Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 51, n. 22, p. 13274–13281, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03940>

CUI, Ying *et al.* Diffusive gradients in thin films using molecularly imprinted polymer binding gels for in situ measurements of antibiotics in urban wastewaters. **Frontiers of Environmental Science and Engineering**, [s. l.], v. 14, n. 6, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1290-5>

DONG, Jia *et al.* Sampling 4-chlorophenol in water by DGT technique with molecularly imprinted polymer as binding agent and nylon membrane as diffusive layer. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 822, p. 69–77, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2014.03.015>. Acesso em: 3 jul. 2019.

DOURADO, Camila Santos *et al.* Synthesis and evaluation of hybrid molecularly imprinted polymers for selective extraction of saccharin in aqueous medium. **Journal of Polymer Research**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 40, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10965-020-02402-z>

FATIBELLO-FILHO, Orlando *et al.* Adoçantes Artificiais. **Quim. Nova**, [s. l.], v. 3, n. 19, p. 248–260, 1996.

FIGUEIREDO, Eduardo Costa; DIAS, Ana Cristi Basile; ARRUDA, Marco Aurélio Zezzi. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s. l.], v. 44, n. 3, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1516-93322008000300005>

GÓRECKI, Tadeusz; NAMIENIK, Jacek. Passive sampling. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 276–291, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00407-7](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00407-7)

HARMAN, Christopher; ALLAN, Ian John; VERMEIRSSSEN, Etiënne L.M. Calibration and use of the polar organic chemical integrative sampler-a critical review. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [s. l.], v. 31, n. 12, p. 2724–2738, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.2011>

HOU, Xiaofang *et al.* Analysis of Additives in Milk Powders with SPE-HPLC or 2D-HPLC Method. *In: MILK PRODUCTION, PROCESSING AND MARKETING*. [S. l.]: IntechOpen, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/intechopen.86445>. Acesso em: 13 jul. 2019.

KACZMARSKI, Krzysztof; KOWALSKA, Teresa; PRUS, Wojciech. Theory and Mechanism of Thin-Layer Chromatography. **Handbook of Thin-Layer Chromatography**, [s. l.], 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9780203912430.ch2>

KOKOTOU, Maroula G.; ASIMAKOPOULOS, Alexandros G.; THOMAIDIS, Nikolaos S. Artificial sweeteners as emerging pollutants in the environment: Analytical methodologies and environmental impact. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 4, n. 10, p. 3057–3070, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c2ay05950a>

LI, Yanan *et al.* Molecularly imprinted polymer based diffusive gradients in thin-films for in situ selective sampling and determination of ciprofloxacin. **Journal of Separation Science**, [s. l.], v. 41, n. 20, p. 3946–3952, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jssc.201800649>

MONTAGNER, Cassiana C.; VIDAL, Cristiane; ACAYABA, Raphael D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, [s. l.], v. 40, n. 9, p. 1094–

1110, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170091>

ORDÓÑEZ, Edgar Y. *et al.* Determination of artificial sweeteners in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1256, p. 197–205, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.07.073>

PICHON, Valérie; CHAPUIS-HUGON, Florence. Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants-A review. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 622, n. 1–2, p. 48–61, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.05.057>

PRAVEENA, Sarva Mangala; CHEEMA, Manraj Singh; GUO, How Ran. Non-nutritive artificial sweeteners as an emerging contaminant in environment: A global review and risks perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 170, n. December 2018, p. 699–707, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.048>

RICHARDSON, Susan D.; TERNES, Thomas A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 90, n. 1, p. 398–428, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04577>

SCHEURER, Marco; BRAUCH, Heinz J.; LANGE, Frank T. Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 394, n. 6, p. 1585–1594, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2881-y>

SIMPSON, Nigel J. K. **SOLID-PHASE EXTRACTION: Principles, Techniques, and Applications**. 1 Editioned. New York: [s. n.], 2000. ISSN 0904213X.

TARLEY, César R. T.; SOTOMAYOR, Maria Del P. T.; KUBOTA, Lauro Tatsuo. Polímeros biomiéticos em química analítica. Parte 1: Preparo e aplicações de MIP em técnicas de extração e separação. **Quim. Nova**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 1076–1086, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n6/26840.pdf>

TONG, Yao *et al.* Thermodynamic analysis and molecular dynamic simulation of the solubility of saccharin in three binary solvent mixtures. **Journal of Chemical Thermodynamics**, [s. l.], v. 141, p. 105952, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jct.2019.105952>

TRAN, Ngoc Han *et al.* Suitability of artificial sweeteners as indicators of raw

wastewater contamination in surface water and groundwater. **Water Research**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 443–456, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.09.053>

TURIEL, Esther; MARTÍN-ESTEBAN, Antonio. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 668, n. 2, p. 87–99, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.019>

VAN STEMPOORT, Dale R. *et al.* Artificial sweeteners as potential tracers in groundwater in urban environments. **Journal of Hydrology**, [s. l.], v. 401, n. 1–2, p. 126–133, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2011.02.013>

VRANA, Branislav *et al.* Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 24, n. 10, p. 845–868, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.06.006>

WEIHRAUCH, Martin R.; DIEHL, V. Artificial sweeteners - Do they bear a carcinogenic risk? **Annals of Oncology**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 1460–1465, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdh256>

YAN, Hongyuan *et al.* Hybrid molecularly imprinted polymers synthesized with 3-aminopropyltriethoxysilane-methacrylic acid monomer for miniaturized solid-phase extraction: A new and economical sample preparation strategy for determination of acyclovir in urine. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1346, p. 16–24, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.045>

ZAIDI, Shabi Abbas. Molecular imprinting polymers and their composites: A promising material for diverse applications. **Biomaterials Science**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 388–402, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c6bm00765a>

ZHANG, Hao; DAVISON, William. Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 398, n. 2–3, p. 329–340, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00458-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00458-4)

ZHANG, Hao; DAVISON, William. Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 67, n. 19, p. 3391–3400, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac00115a005>