



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LETÍCIA MARIA EFFTING

**SÍNTESE DE POLÍMERO MAGNÉTICO MOLECULARMENTE
IMPRESSO USANDO A ABORDAGEM SEMI-COVALENTE
DE IMPRESSÃO QUÍMICA E APLICAÇÃO NA PRÉ-
CONCENTRAÇÃO DE OXITETRACICLINA**

Londrina
2023

LETÍCIA MARIA EFFTING

**SÍNTESE DE POLÍMERO MAGNÉTICO MOLECULARMENTE
IMPRESSO USANDO A ABORDAGEM SEMI-COVALENTE
DE IMPRESSÃO QUÍMICA E APLICAÇÃO NA PRÉ-
CONCENTRAÇÃO DE OXITETRACICLINA**

Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley

Londrina
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

E27 Effting, Letícia Maria.
Síntese de polímero magnético molecularmente impresso usando abordagem semi-covalente de impressão química e aplicação na pré-concentração de oxitetraciclina / Letícia Maria Effting. - Londrina, 2022.
149 f. : il.

Orientador: César Ricardo Teixeira Tarley.
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2022.
Inclui bibliografia.

1. antibiótico - Tese. 2. extração em fase sólida magnética dispersiva - Tese. 3. HPLC-DAD - Tese. 4. amostras alimentícias - Tese. I. Tarley, César Ricardo Teixeira. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

LETÍCIA MARIA EFFTING

**SÍNTESE DE POLÍMERO MAGNÉTICO MOLECULARMENTE
IMPRESSO USANDO A ABORDAGEM SEMI-COVALENTE
DE IMPRESSÃO QUÍMICA E APLICAÇÃO NA PRÉ-
CONCENTRAÇÃO DE OXITETRACICLINA**

Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira
Tarley
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Bruno Eduardo Lobo Baeta
Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP

Prof^a. Dr^a. Diana Nara Ribeiro de Sousa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 06 de março de 2023.

À Nossa Senhora das Graças, e aos meus pais, Pedro e Teresinha, que nunca mediram esforços na busca pela melhor educação de suas filhas.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e a Nossa Senhora das Graças pela ajuda e sabedoria que me foram concedidas, e pelas inúmeras vezes que me deram forças quando a realidade me fazia desanimar.

Ao meu orientador Prof. César pelos conselhos e orientações que foram de extrema importância para o desenvolvimento deste trabalho. Pelos momentos de aprendizagem que me fizeram crescer pessoal e profissionalmente.

Aos meus pais, Pedro e Teresinha, que mesmo tendo concluído somente o ensino fundamental, sempre me mostraram a importância da educação, por me apoiar e incentivar a ir em busca dos meus objetivos – ainda que a distância doa em nossos corações – por todo amor e cuidado, por todo o suporte emocional e financeiro dado na minha jornada pessoal e profissional. Amo vocês!

À Luciane – minha irmã, madrinha, amiga e parceira de laboratório – por ser minha inspiração, por dividir os bons e os maus momentos e por trilhar comigo a vida pessoal e profissional, “...*When the sun shines, we'll shine together, Told you I'll be here Forever, Said I'll always be your friend, Took an oath I'mma stick it out 'till the end, Now that it's raining more than ever, Know that we'll still have each Other...*”.

As amigadas que a vida me proporcionou e intensificou ao longo do mestrado. À Milena, por topar dividir muito mais do que as contas e faxinas de casa, por todos os ensinamentos científicos e de vida. À Benuto, Carol Santana, Érica, Livinha e Maria pelo apoio e incentivo, momentos de diversão e boas conversas acompanhadas de muitas risadas. Muito obrigada por terem me acolhido e se tornado minha família em Londrina! Com certeza, a trajetória até aqui foi mais leve por conta de vocês!

À todos os colegas do grupo de pesquisa LADEMA, GMPC e LAEEM, em especial aos parceiros de HPLC, por todas as conversas científicas e não científicas, ajuda com experimentos e bons cafés.

À Universidade Estadual de Londrina pela infraestrutura. Ao corpo docente do curso de Pós-Graduação em Química, por todo o aprendizado e por terem proporcionado a minha formação acadêmica. À CAPES pela bolsa fornecida durante um período do mestrado (2022-2023).

À todas as pessoas que colaboraram para a conclusão desta importante fase da minha vida, que não estão presentes entre estas palavras, mas podem estar certas de que fazem parte do meu pensamento e da minha gratidão. Obrigada!

“De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura um encontro”.

Fernando Sabino.

EFFTING, Letícia Maria. **Síntese de polímero magnético molecularmente impresso usando abordagem semi-covalente de impressão química e aplicação na pré-concentração de oxitetraciclina.** 2023. 149 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

RESUMO

A oxitetraciclina (OTC), é um antibiótico de amplo espectro utilizado para o tratamento de infecções bacterianas na medicina humana e veterinária, considerada um poluente emergente devido à presença de seus resíduos em alimentos de origem animal e no meio ambiente, tornando-se um grave problema de saúde pública pelo aparecimento de microrganismos resistentes a essas substâncias. Devido às baixas concentrações em amostras de interesse ambiental e alimentício, se faz necessária a implementação de uma etapa de pré-concentração/tratamento de amostras para viabilizar a determinação desse antibiótico por técnicas cromatográficas. A extração em fase sólida magnética dispersiva (MDSPE) empregando polímeros magnéticos molecularmente impressos (MMIPs) tem sido utilizada como uma atraente estratégia, devido à adsorção seletiva do analito alvo pelo polímero. Apesar de amplamente utilizada, a MDSPE usando MMIPs tem sido desenvolvida majoritariamente com polímeros molecularmente impressos sintetizados *via* interação não covalente entre *template* e monômero funcional. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um novo método analítico baseado na pré-concentração de OTC em amostras de água e alimentos usando um polímero magnético molecularmente impresso ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$) e determinação por HPLC-DAD. O caráter inovador do trabalho baseia-se na síntese semi-covalente, em que o complexo *template*-monômero foi sintetizado pela reação do monômero funcional 3-triethoxisililpropil isocianato (ICPTES) *via* ligação covalente com a molécula de OTC. A remoção da OTC por clivagem química produziu sítios específicos de reconhecimento de OTC na superfície do polímero. O polímero não impresso (NIP) foi sintetizado substituindo o complexo OTC-ICPTES pelo (3-aminopropil)trióxissilano (APTES) com o intuito de obter os mesmos grupos funcionais do MIP-magnético. Os materiais sintetizados foram caracterizados por espectroscopia vibracional no infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR), fisiossorção de N_2 , termogravimetria (TGA), medidas de magnetização (VSM), difratometria de raios-X (XRD), microscopia eletrônica de varredura (SEM) e de transmissão (TEM). Observou-se área superficial específica de $216,0 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ para $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ superior ao $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ ($103,6 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). A partir de estudos de adsorção competitiva entre OTC/paracetamol, OTC/hidroquinona, OTC/ciprofloxacina, observou-se que o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ apresentou maior seletividade a OTC frente aos concomitantes e em comparação ao $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$. A capacidade máxima adsortiva (CMA) do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ é de $8,78 \text{ mg g}^{-1}$ de OTC em água (pH 4,0) e $8,75 \text{ mg g}^{-1}$ em metanol. Comparado com a CMA de outros MMIPs para OTC, o resultado obtido no presente trabalho é considerado satisfatório, em especial pelo reduzido tempo de extração (80 s). O método MDSPE é baseado na pré-concentração de 40,0 mL de padrão/amostra (pH 4,0) auxiliada por vórtex com 10 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ durante 60 s. A eluição foi realizada com 400 μL da fase móvel do HPLC, ácido oxálico 0,01 mol L^{-1} /acetonitrila (77,5/22,5 v/v). O método apresentou limite de quantificação (LQ) e detecção (LD) de 0,26 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,89 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, e fator de pré-concentração de 90,44 vezes para a OTC. O método

foi aplicado visando a determinação de OTC em amostras de água e leite com resultados de recuperação variando entre 94,0 – 99,0 %. A avaliação dos parâmetros analíticos para as demais TCs mostrou que o material apresenta sítios seletivos complementares em forma, tamanho e distribuição espacial as moléculas de TCs, sendo possível a determinação dos análogos estruturais em amostras alimentícias.

Palavras-chave: antibiótico; extração em fase sólida magnética dispersiva; HPLC-DAD; amostras alimentícias.

EFFTING, Letícia Maria. **Synthesis of molecularly imprinted magnetic polymer using semi-covalent chemical imprinting approach and application preconcentration of oxytetracycline.** 2023. 149 p. Dissertation (Master in Chemistry) - State University of Londrina, Londrina, 2022.

ABSTRACT

Oxytetracycline (OTC), a broad-spectrum antibiotic utilized for bacterial infections treatment in human and veterinary medicine, has been considered an emerging pollutant due to the presence of its residues in animal-based food and in the environment, becoming a serious public health problem due to the appearing of microorganisms resistant to these substances. Due to the low concentrations in environmental and food interest samples, it is usually necessary to implement a stage of sample preconcentration/treatment to enable the determination of this antibiotic by chromatographic techniques. Magnetic dispersive solid phase extraction (MDSPE) employing magnetic molecularly imprinted polymers (MMIPs) has been utilized as an attractive strategy, due to the selective adsorption of the target by the polymer. Although widely utilized, an MDSPE using MMIPs has been developed mostly with molecularly imprinted polymers synthesized via non-covalent interaction between template and monomer. The present work had as objective to develop a new analytical method based on preconcentration of OTC in water and food samples using a magnetic molecularly imprinted polymer ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$) and determination by HPLC-DAD. The innovative feature of this work relies upon semi-covalent synthesis, in which the template-monomer complex was synthesized by the reaction of the functional monomer 3-triethoxysilylpropyl isocyanate (ICPTES) via covalent bond with the OTC molecule. Removal of the OTC by chemical cleavage produced specific OTC recognition sites on the polymer surface. The non imprinted polymer was synthesized by replacing the OTC-ICPTES complex for the (3-aminopropyl) triethoxysilane (APTES) with the goal of obtaining the same functional groups of the magnetic-MIP. The synthesized materials were characterized by Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy, physisorption N_2 , thermogravimetry (TGA), magnetization measurements (VSM), X-ray diffractometry (XRD), scanning electronic microscopy (SEM) and transmission electronic microscopy (TEM). A specific superficial area of $216.0 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ was observed for $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ superior to $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ ($103.6 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). From competitive adsorption studies among OTC/paracetamol, OTC/hydroquinone, OTC/ciprofloxacin, it was observed that the $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ presented greater selectivity to OTC compared to the concomitants and comparison to $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$. The maximum adsorption capacity (MAC) of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ was 8.78 mg g^{-1} de OTC in water (pH 4.0) and 8.75 mg g^{-1} in methanol. Compared to the MAC of other MMIPs for OTC, the result obtained in the present work is considered satisfactory, especially due to the reduced extraction time (80 s). The MDSPE method is based on the preconcentration of 40.0 mL of standard/sample (pH 4.0) vortex-assisted with 10 mg of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ during 60 s. The elution was performed with 400 μL of the mobile phase of the HPLC, oxalic acid 0.01 mol L^{-1} /acetonitrile (77.5/22.5 v/v). The method presented limit of quantification (LQ) and detection (LD) of $0.26 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.89 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively, and preconcentration factor of 90.44 times. The method was applied to determine OTC in water and milk samples with recovery results ranging from 94.0-99.0 %. The evaluation of the analytical

parameters for the other TCs showed that the material presents selective sites that are complementary in shape, size, and spatial distribution to the TCs molecules, making it possible to determine the structural analogues in food samples.

Key words: antibiotic; magnetic dispersive solid phase extraction; HPLC-DAD; food samples.

LISTRA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Estrutura química das principais TCs.....	26
Figura 2 -	Representação esquemática da extração em fase sólida	33
Figura 3 -	Representação esquemática do método MDSPE	35
Figura 4 -	Estruturas cristalinas das fases de óxido de ferro	36
Figura 5 -	Representação esquemática da síntese de MIPs	40
Figura 6 -	Mecanismos gerais de hidrólise e condensação de precursores de alcoxi-silano para formar sílica em (a) condições catalisadas por ácido e (b) condições catalisadas por base	46
Figura 7 -	Representação esquemática dos procedimentos de síntese dos materiais.....	57
Figura 8 -	Procedimento de síntese do Fe ₃ O ₄ pelo método de coprecipitação química de Fe ²⁺ e Fe ³⁺	58
Figura 9 -	Procedimento de síntese do revestimento do óxido de ferro com sílica (Fe ₃ O ₄ /SiO ₂).....	59
Figura 10 -	Procedimento de formação do complexo OTC-ICPTES	60
Figura 11 -	Estrutura do (3-aminopropil) trietoxissilano	60
Figura 12 -	Preparo da amostra de leite para aplicação do método MDSPE ...	75
Figura 13 -	Espectros de ATR - FTIR da OTC, ICPTES e do complexo OTC-ICPTES	77
Figura 14 -	Espectros de ATR-FTIR do Fe ₃ O ₄ e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂	77
Figura 15 -	Espectro de ATR-FTIR do Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP ...	78
Figura 16 -	Isotermas de adsorção e dessorção do Fe ₃ O ₄ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP-OTC, Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	83
Figura 17 -	Curvas termogravimétricas para o Fe ₃ O ₄ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP-OTC, Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	84
Figura 18 -	Curvas de magnetização do Fe ₃ O ₄ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP, Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP (No detalhe da parte inferior direita, é possível observar a pequena histerese obtida para cada um deles).....	86
Figura 19 -	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP sem e com aproximação de um campo magnético externo, respectivamente.....	88

Figura 20 - Difratogramas de raios X para o Fe ₃ O ₄ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	89
Figura 21 - Micrografias eletrônica de transmissão para o Fe ₃ O ₄ com aproximações de a) 50k, b) 150k e c) 250k, respectivamente	91
Figura 22 - Micrografias eletrônica de transmissão para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ com aproximações de a) 50k, b) 150k e c) 250k, respectivamente	91
Figura 23 - Micrografias eletrônica de transmissão para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP com aproximações de a) 50k, b) 150k e c) 250k, respectivamente	92
Figura 24 - Micrografias eletrônica de transmissão para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP com aproximações de a) 50k, b) 150k e c) 250k, respectivamente	92
Figura 25 - Micrografias eletrônica de varredura para o Fe ₃ O ₄ com aproximações de 5000, 10000 e 20000 vezes	94
Figura 26 - Micrografias eletrônica de varredura para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ com aproximações de 5000, 10000 e 20000 vezes	95
Figura 27 - Micrografias eletrônica de varredura para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP com aproximações de 5000, 10000 e 20000 vezes	96
Figura 28 - Micrografias eletrônica de varredura para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP com aproximações de 5000, 10000 e 20000 vezes	97
Figura 29 - Percentuais de adsorção da OTC pelos materiais Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP nos solventes H ₂ O, ACN e MeOH	98
Figura 30 - Estrutura molecular e grupos funcionais de pKa da OTC	100
Figura 31 - Diagrama de especiação da OTC em função do pH	100
Figura 32 - Percentuais de adsorção da OTC pelo Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP em diferentes valores de pH	101
Figura 33 - Fórmula estrutural da OTC a) e dos interferentes escolhidos, paracetamol (b) hidroquinona (c) e ciprofloxacina (d)	103
Figura 34 - Influência do tempo de contato entre Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP com solução de OTC 2,0 mg L ⁻¹ em água (pH 4,0) e metanol no processo de adsorção	105

Figura 35 - Modelos de Pseudo-primeira ordem, Pseudo-segunda ordem, Elovich e Difusão Intrapartícula aplicados aos dados cinéticos para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP, em H ₂ O (pH 4,0) e MeOH	107
Figura 36 - Modelos de Pseudo-primeira ordem, Pseudo-segunda ordem, Elovich e Difusão Intrapartícula aplicados aos dados cinéticos para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP, em H ₂ O (pH 4,0) e MeOH.....	108
Figura 37 - Isoterma de adsorção com aplicação do modelo de Langmuir, Freundlich e Langmuir-Freundlich para um e dois sítios de adsorção para o Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP em água (pH 4,0) e metanol..	115
Figura 38 - Influência da massa do Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP na adsorção de OTC ..	117
Figura 39 - Influência do tempo de vórtex na adsorção da OTC pelo Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	118
Figura 40 - Porcentagem de eluição da OTC pelo Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP em diferentes solventes	119
Figura 41 - Influência do volume do solvente de eluição da OTC do Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	120
Figura 42 - Curvas analíticas sem a etapa de pré-concentração (A) e com a etapa de pré-concentração (B).....	121
Figura 43 - Cromatogramas de aplicação do método MDSPE	125
Figura 44 - Curvas analíticas sem a etapa de pré-concentração (A) e com a etapa de pré-concentração (B).....	127
Figura 45 - Aplicação do método MDSPE em amostras de leite para TCs	132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Propriedades físicos-químicas das TCs	27
Tabela 2	- Área superficial, volume médio de poro e diâmetro médio de poro para o Fe ₃ O ₄ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP-OTC, Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	81
Tabela 3	- Parâmetros magnéticos obtidos pela análise de medida magnética.....	87
Tabela 4	- Parâmetros cristalográficos para o Fe ₃ O ₄ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ , Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	90
Tabela 5	- Parâmetros relacionados ao efeito de impressão para OTC e paracetamol	103
Tabela 6	- Parâmetros relacionados ao efeito de impressão para OTC e hidroquinona	103
Tabela 7	- Parâmetros relacionados ao efeito de impressão para OTC e ciprofloxacina	104
Tabela 8	- Parâmetros preditos pelos modelos de cinética de adsorção da OTC em Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP em água (pH 4,0) e metanol	112
Tabela 9	- Parâmetros preditos pelos modelos de isoterma para adsorção da OTC em Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP e Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP em água (pH 4,0) e metanol	114
Tabela 10	- Comparação da capacidade adsortiva de polímeros molecularmente impressos utilizados para adsorção de TCs descritos na literatura	116
Tabela 11	- Comparação de parâmetros analíticos para determinação de OTC utilizando diferentes MIPs magnéticos e determinação por HPLC-DAD	123
Tabela 12	- Aplicação do método de pré-concentração em MDSPE para análise de resíduos de OTC em amostras superficiais	123
Tabela 14	- Concentração de OTC encontrada em três diferentes marcas de leite UHT bovino.....	124
Tabela 15	- Parâmetros relacionados à seletividade para OTC e análogos estruturais	126

Tabela 16 - Parâmetros analíticos do método MDSPE para os demais análogos estruturais das TCs.....	128
Tabela 17 - Precisão do método MDSPE para os análogos estruturais das TCs.....	128
Tabela 18 - Concentração de TCs encontrada em três diferentes amostras de leite UHT bovino da marca A	130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional Vigilância Sanitária;
APTES	(3-aminopropil) trietoxissilano;
ICPTES	3-triethoxisililpropil isocianato;
CTC	Clorotetraciclina;
DC	Doxiciclina;
DMSO	Dimetilsulfóxido;
Fe ₃ O ₄	Óxido de ferro;
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂	Óxido de ferro com proteção de sílica;
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	Polímero molecularmente impresso na superfície do óxido de ferro com proteção de sílica;
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	Polímero não impresso na superfície do óxido de ferro com proteção de sílica;
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry);
HPLC-DAD	Cromatografia Líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (High Performance Liquid Chromatography Diode Array Detector);
LD	Limite de detecção;
LMRs	Limites máximos de resíduos;
LQ	Limite de quantificação;
MF	Monômero funcional;
MIP	Polímeros molecularmente impressos (Molecularly Imprinted Polymer);
MDSPE	Extração em fase sólida magnética dispersiva (Magnetic dispersive solid phase extraction);
MMIP	Polímero magnético molecularmente impresso;
NIP	Polímero não impresso (Non Imprinted Polymer);
OTC	Oxitetraciclina;
POEs	Poluentes emergentes;
SPE	Extração em fase sólida (Solid phase extraction);
TC	Tetraciclina;
TCs	Tetraciclinas;

TEOS	Tetraetoxisilano;
PPO	Modelo de pseudo-primeira ordem;
PSO	Modelo de pseudo-segunda ordem.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	24
2.1	ANTIBIÓTICOS	24
2.2	TETRACICLINAS (TCs).....	25
2.3	OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE TCs	29
2.4	MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A DETERMINAÇÃO DE TCs	32
2.5	MATERIAIS MAGNÉTICOS	36
2.6	POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS	39
2.7	POLÍMEROS MAGNÉTICOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS	48
3	OBJETIVOS GERAIS	54
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	54
4	PARTE EXPERIMENTAL	55
4.1	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	55
4.2	INSTRUMENTAÇÃO.....	55
4.3	PROCEDIMENTO DE SÍNTESE DOS MATERIAIS	56
4.3.1	Síntese do Óxido de Ferro (Fe ₃ O ₄)	57
4.3.2	Proteção do Óxido de Ferro com Sílica (Fe ₃ O ₄ /SiO ₂).....	58
4.3.3	Polimerização na Superfície do Óxido de Ferro com Sílica (Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP).....	59
4.3.4	Síntese do Polímero Não Impresso (Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP).....	60
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS SINTETIZADOS	61
4.5	EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MAGNÉTICA DISPERSIVA.....	62
4.5.1	Influência do Solvente na Adsorção da OTC.....	62
4.5.2	Influência do pH na Adsorção da OTC	63
4.5.3	Avaliação do Efeito de Impressão Química do Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP para a OTC	63
4.5.4	Cinética de Adsorção.....	64
4.5.5	Isotermas de Adsorção.....	67

4.6	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS RELATIVOS AO MÉTODO MDSPE	70
4.6.1	Influência da Massa e do Tempo de Vórtex na Adsorção da OTC pelo do Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	70
4.6.2	Influência na Natureza e do Volume do Solvente de Eluição	70
4.6.3	Determinação dos Parâmetros Analíticos.....	71
4.7	APLICAÇÃO DO MÉTODO MDSPE EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL E LEITE	72
4.8	AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE E DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS FRENTE AOS ANÁLOGOS ESTRUTURAIS DAS TCS	74
4.8.1	Avaliação da Seletividade.....	74
4.8.2	Parâmetros Analíticos para os Análogos Estruturais.....	74
4.8.3	Aplicação do Método MDSPE para as TCS em Amostras de Leite	75
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	76
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS SINTETIZADOS	76
5.1.1	Espectroscopia Vibracional no Infravermelho com Reflexão Total Atenuada (ATR-FTIR).....	76
5.1.2	Fisiossorção de N ₂	81
5.1.3	Análise Termogravimétrica	83
5.1.4	Medidas de Magnetização.....	85
5.1.5	Difração de Raios X.....	88
5.1.6	Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	91
5.1.7	Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM).....	93
5.2	EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MAGNÉTICA DISPERSIVA.....	97
5.2.1	Influência do Solvente de Adsorção da OTC.....	97
5.2.2	Influência do pH na Adsorção da OTC	99
5.2.3	Avaliação do Efeito de Impressão Química do Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP para a OTC.....	100
5.2.4	Cinética de Adsorção.....	105
5.2.5	Isotermas de Adsorção.....	113
5.3	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS RELATIVOS AO MÉTODO MDSPE	117
5.3.1	Influência da Massa e do Tempo de Vórtex na Adsorção da OTC pelo Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	117
5.3.2	Influência da Natureza e do Volume do Solvente de Eluição	118

5.3.3	Determinação dos Parâmetros Analíticos.....	120
5.4	APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL E DE LEITE..	123
5.5	AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE E DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS FRENTE AOS ANÁLOGOS ESTRUTURAIS DAS TCS	126
5.5.1	Avaliação da Seletividade.....	126
5.5.2	Parâmetros Analíticos para os Análogos Estruturais.....	127
5.5.3	Aplicação do Método MDSPE para as TCS em Amostras de leite	129
6	CONCLUSÃO	134
7	REFERENCIAS	136

1. INTRODUÇÃO

Os antibióticos são substâncias químicas utilizadas para o tratamento de doenças infecciosas na medicina humana e veterinária e em alguns casos como promotores de crescimento animal na pecuária (OMUFEREN, MASEKO e OLOWOYO, 2022). Essas substâncias têm despertado uma crescente preocupação científica no que se refere aos seus potenciais efeitos adversos. A baixa absorção pelo sistema digestivo por humanos e animais e o uso excessivo, a ocorrência de resíduos em alimentos de origem animal e no meio ambiente devido a excreção pela urina e fezes, bem como pelo descarte incorreto, representam um risco à saúde pública devido ao desenvolvimento de microrganismos resistentes (PEREIRA-MAIA *et al.*, 2010; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018; MANYI-LOH *et al.*, 2018).

Uma das classes de antibióticos amplamente consumidas são as tetraciclina (TCs), na qual estão inclusas a tetraciclina (TC), oxitetraciclina (OTC), clorotetraciclina (CTC) e doxiciclina (DC). Possuem uma estrutura química muito semelhante e apresentam uma ampla atividade antimicrobiana contra doenças agudas causadas por bactérias gram-positivas e gram-negativas, alguns fungos e protozoários, pois atuam inibindo a síntese de proteínas de forma irreversível (ERDEM, ÖZTEKIN E SAĞ AÇIKEL, 2021; DAGHRIR e DROGUI, 2013).

Por representar um risco de saúde pública, visando regulamentar o consumo e reduzir seu uso excessivo principalmente na medicina veterinária, órgãos de fiscalização mundial estabeleceram limites máximos de resíduos (LMR) para quantidade única ou total de TCs em alimentos de origem animal (BARALLA *et al.*, 2021), porém não há no Brasil e no mundo, legislações referentes a ocorrência de resíduos em matrizes ambientais.

A fim de identificar e quantificar essas substâncias, a técnica analítica oficial para a análise de resíduos de TCs pela AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) é a cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) (FENG *et al.*, 2016; CAPRIOTTI *et al.*, 2012; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018). Porém, cabe salientar que em geral, as técnicas analíticas de detecção são geralmente associadas as etapas de pré-tratamento da amostra antes da análise instrumental devido à complexidade da matriz alimentar e ambiental e a concentração relativamente baixa de TCs.

Dentre os diversos métodos de preparo de amostras empregados para a extração e limpeza de TCs, a extração em fase sólida dispersiva (DSPE) consiste em adicionar um adsorvente em uma amostra líquida para que seja extraído o analito de interesse, sem a necessidade de formação de coluna e condicionamento do adsorvente como na extração em fase sólida (SPE). Com o sólido disperso, há um aumento da superfície de contato entre o adsorvente e o analito, garantindo maior interação entre eles. Para a separação das fases líquida e sólida no processo de adsorção e dessorção é necessário uma etapa de filtração e centrifugação, aumentando o tempo de preparo da amostra (SOCAS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2015).

Em contraponto, a extração em fase sólida magnética dispersiva (MDSPE) consiste na dispersão de partículas magnéticas em solução contendo o analito, que facilitada por agitação vigorosa retém o analito na superfície do material. Após a etapa de adsorção, com o auxílio de um campo magnético externo, as partículas magnéticas contendo o analito adsorvido são separadas do restante da solução e agitadas novamente na presença de um pequeno volume de eluente. Novamente, com o auxílio de um campo magnético externo, as partículas são separadas da solução do eluente, que posteriormente é utilizado para determinação do analito (SILVA *et al.*, 2016).

Dentre as partículas magnéticas sintetizadas para diferentes finalidades relatadas na literatura, uma das mais utilizadas é a magnetita (Fe_3O_4). A magnetita é um material ferrimagnético contendo ferro em dois estados de oxidação, $\text{FeO}^{(2+)}$ e $\text{Fe}_2\text{O}_3^{(3+)}$, facilmente oxidado e vulnerável a perda de magnetismo. Assim, manter a estabilidade das partículas magnéticas por um longo tempo, sem aglomeração e precipitação ou perda de magnetismo são pontos importantes para a aplicação do material (MENDONÇA *et al.*, 2019). Uma alternativa é proteger a magnetita, sendo uma das possibilidades a funcionalização da superfície com materiais inorgânicos, como a sílica, evitando a degradação das partículas magnéticas e funcionalizando a superfície com grupos silanol (Si-OH), que podem ser usados para modificações na superfície (MENDONÇA *et al.*, 2019; SPELTINI *et al.*, 2017).

A possibilidade de realizar modificações na superfície da sílica permite a síntese de polímeros molecularmente impressos sobre estes materiais. Os MIPs (do inglês, *Molecularly Imprinted Polymer*) são amplamente empregados como adsorventes seletivos para a pré-concentração e separação de substâncias orgânicas em diversas matrizes, devido a sua alta seletividade, boa estabilidade, baixo custo e

fácil preparação (MARFÀ *et al.*, 2021; ANSARI, 2017; CHEN *et al.*, 2016; MARTÍN-ESTEBAN, 2013; TARLEY, SOTOMAYOR e KUBOTA, 2005).

Para a produção de um material polimérico molecularmente impresso, inicialmente há a formação de complexos de interação entre o *template*, geralmente o analito de interesse, e o monômero funcional (MF) na presença de um solvente porogênico (solvente criador de poros). Após a polimerização, a remoção do *template* do polímero pode ser realizada com lavagem de solventes específicos ou por meio de clivagem química, resultando na liberação de sítios de ligação que são complementares em forma, tamanho e funcionalidades do analito de interesse ou análogos estruturais (MARFÀ *et al.*, 2021; CLAUSEN, PIRES e TARLEY, 2014; TARLEY, SOTOMAYOR e KUBOTA, 2005).

A capacidade de reconhecimento molecular do MIP é investigada em relação ao polímero não impresso (NIP, *Non Imprinted Polymer*). O NIP é sintetizado nas mesmas condições do MIP, porém sem a adição do *template*, funcionando como um polímero controle (MARFÀ *et al.*, 2021; CHEN *et al.*, 2016; MARTÍN-ESTEBAN, 2013; TARLEY, SOTOMAYOR e KUBOTA, 2005). Os MIPs podem ser sintetizados utilizando diferentes metodologias, que influenciam nas características do polímero final e são utilizadas dependendo da aplicação desejada (CHEN *et al.*, 2022).

O tipo de interação estabelecida entre o *template* com o MF é um parâmetro importante na etapa de síntese do material. As interações podem ocorrer de forma covalente, não-covalente e semi-covalente. A ligação semi-covalente consiste estabelecer uma ligação covalente entre o *template* e o MF durante a síntese, enquanto a religação do *template* ao MF é baseada em ligações não covalentes. Dessa maneira, este método alia as vantagens de alta afinidade e especificidade da ligação covalente, como o controle rigoroso da localização do grupo funcional e distribuição mais uniforme dos sítios de ligação, com as condições de reduzir a restrição cinética no processo de religação da síntese não covalente (EFFTING *et al.*, 2022; MARFÀ *et al.*, 2021; CHEN *et al.*, 2016; ZHAN *et al.*, 2013).

Visando facilitar o processo de adsorção e eluição do analito, a combinação de materiais magnéticos com MIPs demonstra-se muito vantajosa. Polímeros magnéticos molecularmente impressos (MMIPs) são materiais sintetizados na presença de partículas magnéticas. O material resultante confere propriedade sinérgicas de ambos os materiais, incluindo alta seletividade e boa estabilidade, e são adequados para a adsorção específica e separação rápida do material do meio de análise por um ímã

externo sem necessidade de uma etapa de centrifugação (MARFÀ *et al.*, 2021; ANSARI, 2017; KAISER *et al.*, 2016; CHANG, CHEN e LI, 2012).

Trabalhos envolvendo a síntese de polímeros magnéticos molecularmente impressos (MMIPs) para moléculas de TCs são reportados na literatura. Embora tenham sido alcançados resultados satisfatórios na determinação de TCs, os MMIPs relatados são majoritariamente por interação não covalente entre o *template* e o MF. Desta forma, a síntese semi-covalente para TCs ainda é inexplorada. Um MMIP sintetizado por estratégia de ligação semi-covalente apresenta vantagens especialmente no seu desempenho seletivo e formação de sítios mais uniformes, além da fácil separação do adsorvente do meio de análise.

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar um novo MMIP para TCs, por meio da abordagem semi-covalente através da ligação termicamente reversível entre OTC (*template*) e 3-triethoxisilil propil isocianato (ICPTES) (monômero funcional) e desenvolver um método de pré-concentração usando MDSPE. Os materiais foram caracterizados por espectroscopia vibracional no infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR), fisiossorção de N₂, análise termogravimétrica (TGA), medidas de magnetização (VSM), difração de raios-X (XRD), microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e de varredura (SEM). Foram realizados estudos cinéticos, de isotermas de adsorção e seletividade para OTC a fim de obter uma visão sobre o mecanismo de adsorção entre o adsorvente e o adsorvato. Ainda, foi estudada a influência dos parâmetros na MDSPE, visando a aplicação do método desenvolvido na quantificação de TCs em amostras alimentícias e de água superficial.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos são substâncias químicas produzidas naturalmente ou sinteticamente, usados de forma bacteriostática para inibir o crescimento bacteriano ou de forma bactericida para eliminar as bactérias, sendo classificados com base em seus efeitos e eficácia como antibióticos de amplo ou estreito espectro. Amplamente empregados na medicina humana no tratamento de diversas doenças, na medicina veterinária na profilaxia dos animais e em rações concentradas para promover o crescimento melhorando a eficácia de conversão alimentar (HAULISAH *et al.*, 2022; BARALLA *et al.*, 2021; MANYI-LOH *et al.*, 2018).

São considerados poluentes emergentes (POEs) pois apresentam potencial de causar efeitos adversos ao meio ambiente e aos seres humanos. Definidos como substâncias químicas naturais ou sintéticas, orgânicos e inorgânicos, os POEs estão presentes em uma variedade de produtos comerciais como medicamentos, produtos de uso veterinário e de higiene, agrotóxicos, entre outros, e detectados em concentrações da ordem de microgramas (μg) à nanogramas (ng) por litro (L^{-1}). A presença de fármacos em matrizes ambientais apresenta um conjunto de desafios que precisam ser estudados sobre os reais impactos à saúde humana e ambiental (BARALLA *et al.*, 2021; AHMED *et al.*, 2021; CHENG *et al.*, 2021).

Os resíduos de fármacos, como os antibióticos, atingem matrizes ambientais de diversas maneiras, seja pelo descarte incorreto de medicamentos, uso intensivo na medicina veterinária e/ou pela remoção incompleta nas estações de tratamento de esgotos. Ainda, após sua utilização, tanto na medicina humana como na veterinária, os medicamentos são excretados pelos seres vivos diretamente para o ambiente, sendo transportados para os corpos hídricos, ou, quando as excreções são coletadas e tratadas, passam por estações de tratamento de esgoto (BARALLA *et al.*, 2021; AHMED *et al.*, 2021; CHENG *et al.*, 2021; TRAN *et al.*, 2019).

Nestas estações de tratamento, geralmente os resíduos não são removidos completamente devido à processos de tratamento destinados a remoção de matéria orgânica, não contemplando a remoção de antibióticos e assim estas substâncias acabam alcançando o meio ambiente. Uma vez no meio ambiente, são capazes de entrar nas cadeias alimentares aquáticas e terrestres. Por esta razão, uma grande

quantidade de antibióticos é encontrada em águas e solos com consequentes efeitos indesejáveis nos ecossistemas e na saúde humana e animal, incluindo o desenvolvimento de resistência de microrganismos a antibióticos (BARALLA *et al.*, 2021; AHMED *et al.*, 2021).

No Brasil e no mundo, houve um grande aumento na produção e consumo destes medicamentos, surgindo preocupações em torno deste tema. A Organização Mundial da Saúde (OMS - do inglês *World Health Organization, WHO*) tem promovido políticas mundiais sobre estas problemáticas principalmente quanto ao uso de antibióticos. Os padrões de consumo na medicina veterinária variam entre os países do mundo, alguns antibióticos que são proibidos em alguns países ainda são comercializados em outros (KLEIN *et al.*, 2018).

Estima-se que cerca de 100.000 à 200.000 toneladas de antibióticos estão sendo consumidas em todo o mundo por ano, sendo que o maior consumo ocorre em países de baixa e média renda, como o Brasil (OMUFEREN, MASEKO e OLOWOYO, 2022). No último relatório da OMS sobre a vigilância do consumo de antibióticos correspondente aos anos de 2016 – 2018, o Brasil apresentava um consumo de aproximadamente 22,8 Doses Diárias Definidas (DDD) por cada 1000 habitantes por ano (WHO, 2018).

Uma crescente preocupação científica no que se refere aos potenciais efeitos adversos das classes das tetraciclínas, aminoglicosídeos, β -lactâmicos, lincosamidas, macrolídeos e sulfonamidas, tem despertado atenção em face da baixa absorção pelo sistema digestivo por humanos e animais e o uso excessivo (PEREIRA-MAIA *et al.*, 2010; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018; MANYI-LOH *et al.*, 2018).

2.2 TETRACICLINAS (TCs)

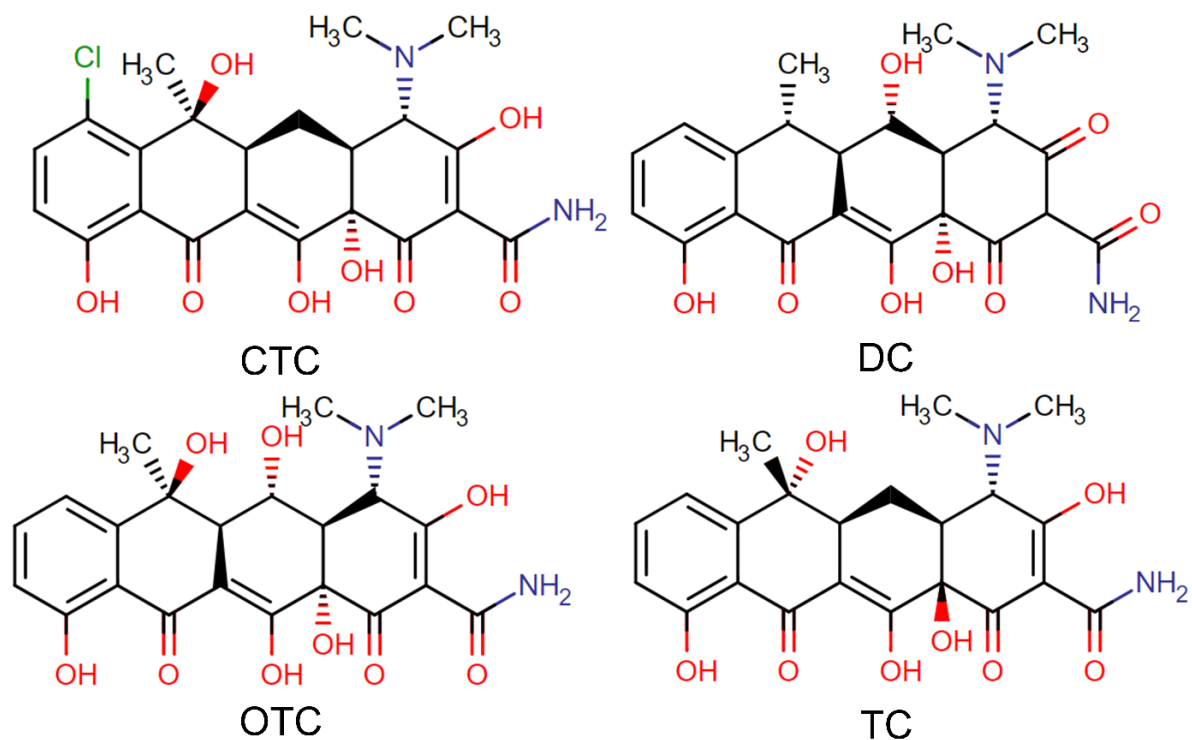
Os medicamentos antibacterianos pertencentes a classe das tetraciclínas (TCs), surgiram em meados do século XX, e até os dias atuais são empregados em grandes quantidades na medicina humana e veterinária. As TCs constituem uma classe de antibióticos naturais, produzidos por diversas espécies de *Streptomyces* (bactérias Gram-positivas filamentosas encontradas no solo), ou semi-sintéticos. Possuem amplo espectro contra alguns protozoários e fungos, e contra uma grande variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, pois atuam por meio da

inibição da síntese proteica ao se ligar na subunidade 30S dos ribossomos bacterianos (ERDEM *et al.*, 2021; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

Em 1945, a clortetraciclina (CTC) primeiro membro da família das TCs, foi descoberta por Benjamin Duggar. Produto da fermentação natural da bactéria *Streptomyces aureofaciens*, recebeu o nome comercial de Aureomicina[®] em referência ao seu microrganismo precursor. Logo em seguida, a segunda TCs foi isolada, conhecida pelo nome comercial de Terramicina[®], a oxitetraciclina (OTC) é produzida pela bactéria *Streptomyces rimosus*. Em 1953, por meio de processos biológicos e químicos, obteve-se a molécula de tetraciclina (TC) que possui a estrutura mais simples dessa família de antibacterianos (PEREIRA-MAIA *et al.*, 2010).

Nos anos seguintes, vários membros da família das TCs foram descobertos e sintetizados. Atualmente a literatura relata a existência de várias TCs naturais ou semi-sintéticas disponíveis comercialmente, porém as mais utilizadas são a clortetraciclina (CTC), doxiciclina (DC), oxitetraciclina (OTC) e a tetraciclina (TC). Na Figura 1 está apresentada a estrutura química das principais TCs.

Figura 1. Estrutura química das principais TCs



Fonte: Adaptado de (MOOKANTSIA, DUBE e NINDI, 2016; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

As substâncias químicas pertencentes a classes das TCs possuem uma estrutura química muito semelhante. Derivadas de um núcleo comum contendo quatro anéis interligados, três grupos funcionais periféricos e radicais adjacentes, diferindo entre si pelos grupos funcionais destes, os quais são responsáveis pela variedade de substâncias desta classe. As TCs são classificadas em vários grupos de geração. A primeira geração são as drogas de ocorrência natural, incluindo a CTC, OTC e TC, e a segunda geração são as tetraciclina semi-sintéticas, como a DC (SCARIA, ANUPAMA e NIDHEESH, 2021).

As TCs têm valores distintos de pK_a que resultam em moléculas com cargas e densidades diferentes e dependentes da faixa de pH, que influencia na permeabilidade da molécula pelas membranas biológicas, ocasionando a absorção das TCs pelas células bacterianas. São consideradas fortes agentes quelantes, uma vez que a quelação do íon metálico divalente é essencial para a atividade microbiana do antibiótico (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

São substâncias químicas cristalinas de cor amarela. Possuem solubilidade em água, menor solubilidade em álcool e são insolúveis em solventes orgânicos. As propriedades distintas das TCs são fornecidas pelo grupo hidroxila fenólico (C-OH), grupo dimetil amino (-N(CH₃)₂), grupo acilamino (-CONH₂) e o sistema de dupla ligação ceto-enol conjugado (DAI *et al.*, 2020). As moléculas de TCs contêm tanto a porção deficiente em elétrons (grupos amino e enona) quanto a porção rica em elétrons (anel fenólico) (SCARIA, ANUPAMA e NIDHEESH, 2021). As propriedades físico-químicas das principais TCs são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas das TCs

	Fórmula molecular	Massa molecular (g mol ⁻¹)	Log Kow	pK _{a1}	pK _{a2}	pK _{a3}	Solubilidade em água (mg L ⁻¹)
CTC	C ₂₂ H ₂₃ ClO ₈ N ₂	478,8	-3,6	4,5	7,8	9,8	630
DC	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	444,4	-0,02	3,0	7,9	9,2	630
OTC	C ₂₂ H ₂₄ O ₉ N ₂	460,4	-0,9	3,4	7,5	9,9	310
TC	C ₂₂ H ₂₄ O ₈ N ₂	444,4	-1,18	3,3	7,7	9,7	231

Fonte: SCARIA, ANUPAMA e NIDHEESH, (2021).

Os três valores de pK_a atribuídos as TCs conferem as moléculas diferentes características de acordo com o pH do meio em que se encontram. Em valores abaixo de pK_{a1} as TCs estão predominantemente em sua forma catiônica, no intervalo entre

pK_{a1} e pK_{a2} assumem a forma de zwitteriônica, e valores acima de pK_{a2} ocorre o predomínio da forma molecular aniônica. Apresentam alta solubilidade em água e menor coeficiente de partição octanol-água que definem seu caráter hidrofílico (DAGHRIR e DROGUI, 2013).

As TCs fazem parte do grupo de antibióticos que ao longo dos anos, devido ao uso indiscriminado na pecuária tem levantado grandes preocupações quanto à qualidade dos alimentos de origem animal, incluindo carne bovina e suína, peixes, leite e ovos, disponíveis para o consumo humano. A contaminação desses alimentos oferece risco à saúde humana, podendo causar efeitos nocivos, tais como reações alérgicas, danos ao fígado, amarelecimento dos dentes, distúrbios gastrointestinais, entre outros. Além disso, o consumo de alimentos contaminados com resíduos de TCs podem induzir o aumento de microrganismos resistentes (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

Visando resguardar a saúde humana dos efeitos adversos de antibióticos várias autoridades reguladoras, como *Codex Alimentarius*, *Food and Drug Administration* e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabeleceram níveis de tolerância ou limites máximos de resíduos (LMRs) para substâncias usadas como medicamentos veterinários em animais destinados à alimentação. A Comunidade Europeia define que LMR é a concentração máxima de resíduo de um produto veterinário presente em alimentos de origem animal, que pode ser ingerido diariamente sem apresentar qualquer risco toxicológico à saúde humana sendo expressos em mg kg^{-1} ou $\mu\text{g kg}^{-1}$ (DAI *et al.*, 2020; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

No Brasil, a ANVISA estabeleceu os LMRs para quantidade única ou total de TCs em alimentos de origem animal, variando de acordo com a parte animal a ser consumida. Os LMR permitidos pela ANVISA são baseados nos indicados pelo *Codex Alimentarius*, órgão de referência mundial para consumidores, produtores e processadores de alimentos, agências nacionais de controle e outras partes interessadas no comércio internacional de alimentos, reconhecidos internacionalmente como as medidas mais adequadas para a proteção da saúde do consumidor (ANVISA, 2022; PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

A ANVISA, no Documento base para a discussão regulatória dos Limites Máximos de Resíduos, na mais recente atualização da Instrução Normativa – IN N° 162, de 1° de julho de 2022 – estabelece a ingestão diária aceitável (IDA) e os limites

máximos de resíduos (LMR) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal (ANVISA, 2022).

Para as TCs (CTC, DC, OTC e TC), o órgão estabelece valores de LMR de 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ em músculos de bovinos, suínos, de aves, camarão e peixes. Em fígado de bovinos, suínos e aves o LMR permitido é de 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$, e em rins de bovinos e suínos o LMR é de 1200 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Para resíduos em leite bovino a legislação permite limites de até 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, e em ovos o LMR permitido é de 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Os valores são definidos para as moléculas em combinação ou isoladas (ANVISA, 2022).

Ainda, no Brasil, a Instrução Normativa 26/2009 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) confere que as TCs são de uso exclusivo em produtos antimicrobianos de uso veterinário, sendo proibida a sua utilização como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho animal ou como conservantes de alimentos para animais (MAPA, 2009).

Por outro lado, o monitoramento de resíduos de TCs em águas superficiais, subterrâneas e para consumo, além de efluentes domésticos, hospitalares e industriais, tanto no Brasil quanto no mundo apresenta-se insuficiente, uma vez que não há legislação vigente que estabeleça um limite máximo permitido ou uma concentração tolerável destas substâncias químicas em matrizes ambientais (PUPIN, 2021; LIMA *et al.*, 2017; COLAÇO, PERALTA-ZAMORA e GOMES, 2014).

2.3 OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE TCs

O destino ambiental e o comportamento de substâncias como os fármacos dependem de sua taxa de degradação, capacidade de sorção, lixiviabilidade e fotoestabilidade. As principais vias de transporte dos TCs no meio ambiente são as indústrias farmacêuticas, hospitais, consumo humano e uso veterinário (SCARIA, ANUPAMA e NIDHEESH, 2021).

O comportamento das TCs em humanos e animais varia de acordo com sua classe. As TCs de primeira geração são administradas por via oral, enquanto as de segunda geração podem ser administradas por via oral ou intravenosa. As TCs de primeira geração são menos lipofílicas e, portanto, têm menor penetração nos tecidos, na faixa de 25 a 60 %, sendo que a presença de metais e refeições ricas em proteínas, carboidratos e gorduras podem inibir a absorção, aconselhando-se consumir estas com o estômago vazio. A segunda geração de TCs, são administradas por via oral ou

intravenosa e possuem lipofilicidade melhorada e maior absorção (AGWUH e MACGOWAN, 2006).

Sereshti *et al.*, (2021), analisaram amostras de água de diferentes regiões do Irã e detectaram a ocorrência de resíduos de TCs. Em água do mar foram detectados 21,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de OTC, 28,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de TC e 32,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DC, e em água de regiões agrícolas 29,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ de OTC, 54,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de TC e 55,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DC foram detectados. Em outro estudo, Sereshti, Karami e Nouri, (2021), detectaram a presença DC em água do mar costeira (5,5 $\mu\text{g L}^{-1}$), água de jardinagem (4,3 $\mu\text{g L}^{-1}$) e amostras de água mineral (3,3 $\mu\text{g L}^{-1}$) de diferentes regiões geográficas do Irã, e atribuíram a contaminação das águas superficiais principalmente à descarga de efluentes de águas residuais não tratadas.

Huang *et al.*, (2019), analisaram em águas e sedimentos de seis rios urbanos em Guangzhou, no sul da China, a ocorrência de nove antibióticos, estando entre estes as TCs. A CTC foi detectada em concentrações na faixa de 0,22 – 64,3 ng L^{-1} e a OTC até 175 ng L^{-1} . Deng, Li e Ying, (2018), analisaram a presença de antibióticos em águas superficiais de onze rios de Hong Kong, e verificaram a ocorrência da TC em concentrações até 35,5 ng L^{-1} .

As TCs, quando aplicadas na medicina veterinária, não são completamente metabolizadas e absorvidas pelo organismo animal, desta forma podem ser eliminadas pela urina e fezes e serem detectadas em efluentes e estrume de animais. A pecuária e as atividades agrícolas representam uma das principais fontes de contaminação de solos, águas superficiais e subterrâneas por TCs. A utilização na veterinária e na aquicultura pode resultar na deposição de resíduos nos produtos alimentícios (LIU *et al.*, 2018; BURKE *et al.*, 2016).

Zhi *et al.*, (2018), detectaram as quatro TCs em efluentes de fazendas de porcos na China, sendo que as TCs foram encontradas em concentrações mais altas que os demais antibióticos analisados (130,67 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CTC, 82,59 $\mu\text{g L}^{-1}$ de OTC e 8,58 $\mu\text{g L}^{-1}$ de TC). Pereira *et al.*, (2015), detectaram resíduos de OTC em concentrações médias de 5,5 ng L^{-1} em sistemas de aquicultura em Portugal. Os autores relataram que mesmo que em baixos níveis, a ocorrência de antibióticos e a resistência de microrganismos é um problema de saúde pública, e que programas de monitoramento de ocorrência devem ser implantados em todo mundo pelas entidades de saúde.

A presença de resíduos de TCs em alimentos de origem animal indica falha no cumprimento das boas práticas veterinárias. Por este motivo, é inegável a necessidade de monitorar a presença destas substâncias em matrizes alimentícias, visando garantir a proteção do consumidor e cumprimento das exigências dos órgãos reguladores.

Kumar, Panda e Sharma, (2022), avaliaram a presença de antibióticos em amostras de leite cru e pasteurizado comercializadas na Índia. As concentrações de OTC variaram de 31,5 a 150,6 $\mu\text{g L}^{-1}$. Três amostras de leite cru continham resíduos de OTC acima do limite de tolerância (100 $\mu\text{g L}^{-1}$). Mohebi *et al.*, (2020), analisaram em amostras de leite comercializadas no Irã resíduos de TCs, e a OTC foi encontrada nas concentrações de 15, 30 e 43 $\mu\text{g L}^{-1}$ em três amostras.

Moudgil *et al.*, (2019), analisaram amostras de leite vendidas em comércio local da Índia, e encontraram resíduos de TC variando as concentrações entre 72,6 – 85,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de OTC na faixa de 62,7 – 177,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de leite de grandes fazendas. Em amostras de leite de médias fazendas, resíduos de TC variando as concentrações entre 72,6 – 122,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de OTC na faixa de 62,7 – 148,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram quantificados. Em amostras de pequenas propriedades resíduos de TC entre 60,1 – 149 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de OTC na faixa de 55,5 – 170,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram detectados. Ambas as TCs foram encontradas acima do LMR (100 $\mu\text{g L}^{-1}$) permitido pelos órgãos de controle nos diferentes lugares de produção. Os autores alertaram que a ocorrência de resíduos de TCs no leite acima do LMR estabelecido é motivo de preocupação e a exposição diária dos consumidores aos resíduos através da ingestão de leite pode resultar em efeitos adversos significativos em sua saúde a longo prazo.

As TCs também foram detectadas em amostras de ovos comercializadas na China por Song *et al.*, (2014). Os autores relataram que em uma amostragem de 30 ovos, 4 ovos apresentaram resíduos de TC, porém não especificaram a concentração encontrada, apenas apontaram que os valores encontrados foram abaixo do LMR permitido (200 $\mu\text{g Kg}^{-1}$). Jiménez *et al.*, (2011), analisaram amostras de ovos produzidas em uma fazenda experimental do *Institute of Agrifood Research and Technology* (IRTA), no qual quarenta e cinco galinhas poedeiras foram divididas em grupos, em que um grupo não recebeu nenhuma droga veterinária e o outro grupo recebeu uma dose diária de 150 mg kg^{-1} de peso corporal de DC na água por um período de cinco dias. As amostras do grupo controle estavam livres de qualquer

resíduo de DC. As amostras colhidas durante o tratamento DC estavam contaminadas com $3800 \mu\text{g kg}^{-1}$. Amostras finais corresponderam aos ovos retirados após o período de carência no tratamento, e continham $147 \mu\text{g kg}^{-1}$ de resíduo de DC, muito acima dos valores de LMR permitidos evidenciando a necessidade de boas práticas veterinárias.

Assim, diante da ocorrência de resíduos de TCs em amostras ambientais e alimentícias, diferentes estratégias estão sendo exploradas para um monitoramento fácil, rápido, sensível e seletivo destes antibióticos por meio de métodos de preparo de amostras para extração, pré-concentração e quantificação em diversas matrizes por técnicas analíticas instrumentais.

2.4 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A DETERMINAÇÃO DE TCs

Na literatura, técnicas analíticas são relatadas a fim de identificar e quantificar TCs. A cromatográfica líquida de alta eficiência, (do inglês: *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC), é considerada a técnica oficial para análise de resíduos de TCs em produtos alimentícios pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018; FENG *et al.*, 2016; CAPRIOTTI *et al.*, 2012). Outras técnicas como a espectrofotometria, voltametria, eletroforese capilar, ensaio imunoenzimático (ELISA) e luminescência também são relatadas (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

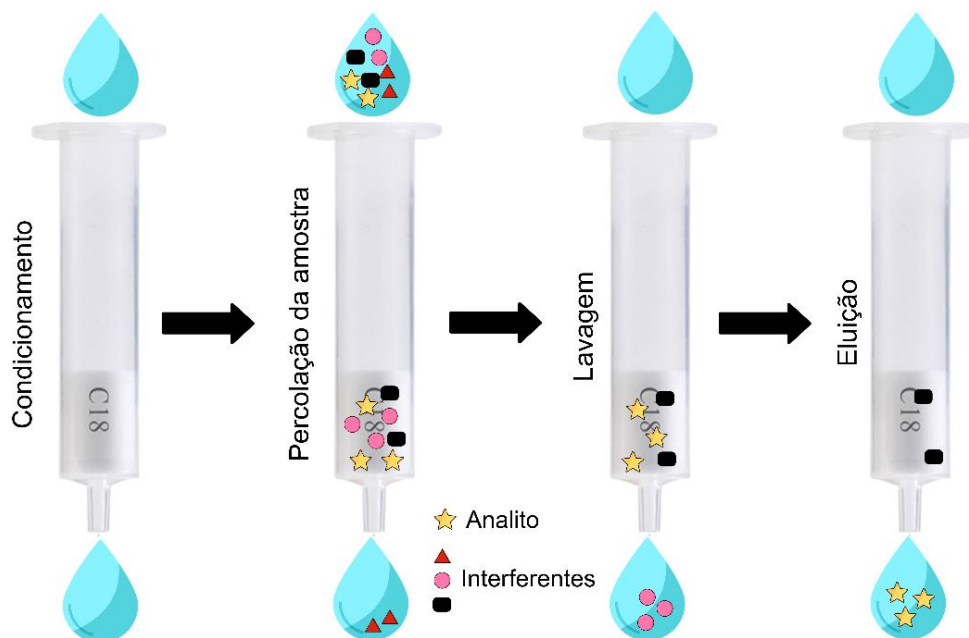
Cabe salientar que, em geral, as técnicas analíticas são geralmente associadas as etapas de pré-tratamento da amostra antes da análise instrumental devido à complexidade da matriz alimentar e ambiental, e a concentração relativamente baixa de TCs. A dificuldade dos métodos de extração e limpeza para análise em matrizes que contenham muitas substâncias interferentes reside na necessidade de eliminar os principais componentes da matriz que podem interferir na determinação das substâncias investigadas. Essa dificuldade levou ao desenvolvimento de estratégias para a extração e pré-concentração de resíduos de TCs nestas matrizes (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

Os principais métodos de preparo de amostras empregadas para a extração de TCs e limpeza da amostra incluem a extração líquido-líquido (do inglês: *liquid-liquid extraction*, LLE), microextração líquido-líquido dispersiva (do inglês: *dispersive liquid-liquid microextraction*, DLLME), extração assistida por ultrassom (do inglês: *ultrasound*

assisted extraction, UAE), extração em fase sólida (do inglês: *solid phase extraction*, SPE), extração em fase sólida dispersiva (do inglês: *dispersive solid phase extraction*, DSPE), extração em fase sólida magnética dispersiva (do inglês: *magnetic dispersive solid phase extraction*, MDSPE) (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018; FENG *et al.*, 2016; CAPRIOTTI *et al.*, 2012).

A SPE é o método de preparo de amostra mais empregado para limpeza, extração e pré-concentração de poluentes emergentes, como as TCs, em níveis de concentração muito baixos. O princípio básico da SPE, conforme ilustrado na Figura 2, consiste em aplicar uma solução que contenha os analitos (amostra) em uma fase sólida (adsorvente) com a capacidade de reter o analito. O adsorvente em SPE é condicionado em cartuchos ou colunas e os analitos a serem extraídos são particionados entre a fase sólida e a fase líquida, e estes devem ter uma maior afinidade pela fase sólida do que pela matriz. Após a separação, o analito é eluído do adsorvente geralmente com o menor volume possível do solvente de eluição (RIDGWAY, LALLJIE e SMITH, 2007).

Figura 2. Representação esquemática da extração em fase sólida



Fonte: Adaptado de ANDRADE-EIROA *et al.*, (2016).

O método SPE apresenta algumas vantagens incluindo a facilidade de automação, boas recuperações, elevada capacidade de pré-concentração do analito e disponibilidade comercial de muitos equipamentos. Porém, apresenta desvantagens

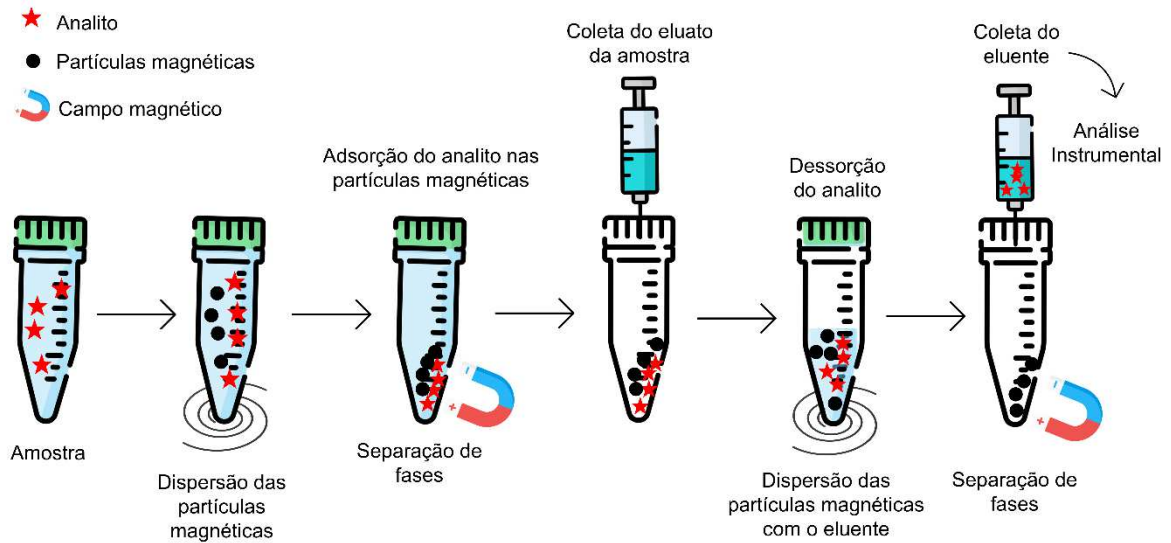
relacionadas ao tempo elevado de análise, altos custos dos cartuchos e dos dispositivos comerciais, entupimento de cartuchos dependendo da amostra utilizada e o empacotamento do material dentro das colunas pode dificultar o processo de difusão do analito da fase líquida para a fase sólida, necessitando de quantidades superiores de adsorvente. Além disso, comparado com técnicas mais modernas como a DLLME, DSPE e MDSPE apresenta maior consumo de solvente orgânico (ZHOU *et al.*, 2020; RIDGWAY, LALLJIE e SMITH, 2007).

Diversos trabalhos na literatura descrevem o uso do método SPE para a extração de resíduos de TCs em matrizes complexas (LI *et al.*, 2022; FENG *et al.*, 2016b; XU *et al.*, 2016; LV *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2013; THANASARAKHAN *et al.*, 2011; FRENICH *et al.*, 2010; JING *et al.*, 2009; MAMANI, REYES e RATH, 2009; SUN *et al.*, 2009; NIKOLAIDOU, SAMANIDOU e PAPADOYANNIS, 2008; SANTOS, DUARTE e ESTEVES, 2007; WANG, YANG e CHENG, 2007; HELLER *et al.*, 2006; BRUNO *et al.*, 2002; CARSON, NGOH e HADLEY, 1998).

Análoga a SPE, a DSPE consiste em adicionar um sólido adsorvente em uma amostra líquida para que sejam extraídos os analitos alvos, sem a necessidade de formação de coluna ou condicionamento do adsorvente. Assim, com o adsorvente disperso na amostra há um aumento da superfície de contato entre o adsorvente e o analito, proporcionando maior interação entre eles (RIDGWAY, LALLJIE e SMITH, 2007). Os procedimentos DSPE são poucos relatados na literatura para a extração de TCs (PHOMAI *et al.*, 2023; PANG *et al.*, 2021; CASTILLO-GARCÍA, AGUILAR-CABALLOS E GÓMEZ-HENS, 2015; KARAGEORGOU *et al.*, 2014; MU *et al.*, 2012), uma vez que há a dificuldade de isolar a fase sólida da fase líquida, necessitando de etapas de centrifugação e filtração, aumentando o tempo de operação do método (SPELTINI *et al.*, 2017).

Visando superar esta desvantagem, a MDSPE surge como uma alternativa de método de preparo de amostras. Uma representação esquemática da MDSPE é apresentada na Figura 3.

Figura 3. Representação esquemática do método MDSPE



Fonte: Adaptado de CHERKASHINA *et al.*, (2020), e SILVA *et al.*, (2016).

No procedimento MDSPE a fase sólida magnética e fase líquida são adicionadas a tubos e submetidas a uma agitação vigorosa, distribuindo o adsorvente uniformemente, que interage com a matriz e facilita o processo de adsorção do analito. O adsorvente é separado do meio de análise com a aplicação de um campo magnético externo, geralmente um ímã, e as partículas magnéticas contendo o analito adsorvido são separadas do restante da solução e novamente agitadas vigorosamente na presença de um pequeno volume de eluente. Posteriormente, com o auxílio de um ímã as partículas são novamente separadas da solução do eluente e o mesmo utilizado para posterior determinação do analito empregando técnicas analíticas (ANSARI, 2017).

A MDSPE possui vantagens como uma rápida difusão do analito da solução para o adsorvente, alta relação entre área, espaço e volume, reutilização do material adsorvente, pré-concentração do analito de interesse e consumo mínimo de solventes orgânicos em comparação com a SPE tradicional (ANSARI e KARIMI, 2017). Na literatura, trabalhos envolvendo adsorventes magnéticos para determinação de TCs são encontrados em diversas matrizes (ZEB *et al.*, 2021; YU e FAN, 2017; YAKOUT e EL-HADY, 2016; CHENG *et al.*, 2012; IBARRA *et al.*, 2011; RODRIGUEZ *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2009).

Uma variedade de adsorventes com propriedades magnéticas são utilizados para MDSPE e a escolha deve ser feita de acordo com a matriz alimentar, os analitos e as substâncias interferentes da qual se pretende analisar (AZZOUZ *et al.*, 2018). Os

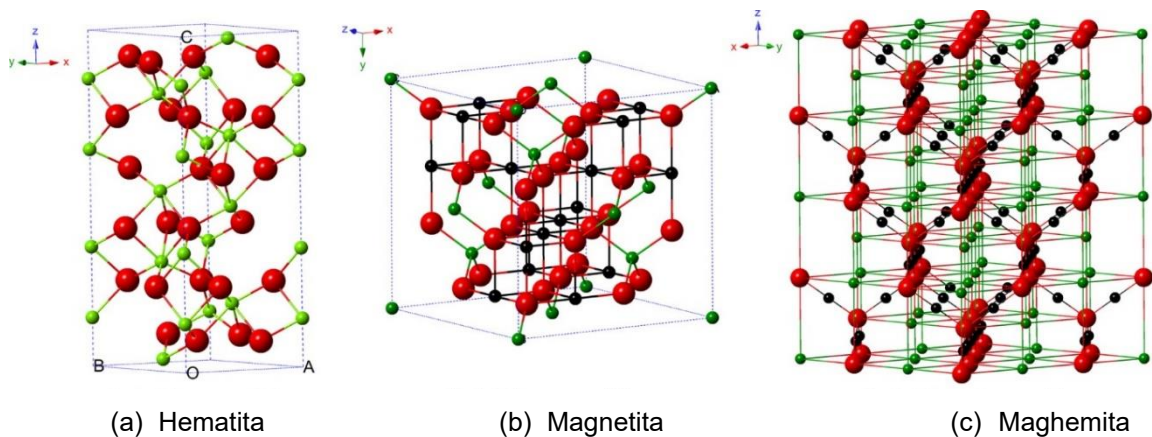
materiais magnéticos mais amplamente relatados na literatura são os óxidos de ferro, principalmente na forma de magnetita (Fe_3O_4).

2.5 MATERIAIS MAGNÉTICOS

O desenvolvimento de partículas magnéticas possibilitou a aplicação em diferentes materiais para a pré-concentração, extração e detecção de diversos compostos. Entre os diversos tipos de materiais magnéticos, o óxido de ferro nas formas de magnetita (Fe_3O_4) e maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) têm sido amplamente aplicados (SOCAS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2015). Estes materiais, utilizando-se de suas propriedades magnéticas, possibilitam o adsorvente de ser manipulado por um campo magnético externo, permitindo a separação deste do meio de análise, sem necessidade de uma etapa de filtração ou centrifugação (CHANG, CHEN e LI, 2012).

Na natureza subsistem vários tipos de óxidos de ferro, os mais comuns são magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), nos quais a estrutura cristalina dos três óxidos pode ser definida em termos de planos compactos de ânions de oxigênio com cátions de ferro em sítios intersticiais octaédricos ou tetraédricos, como demonstrado na Figura 4 (WU, HE e JIANG, 2008).

Figura 4. Estruturas cristalinas das fases de óxido de ferro



Preto: Fe^{2+} ; Verde: Fe^{3+} ; Vermelho: O^{2-} .

Fonte: Adaptado de WU *et al.*, (2015).

A hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) é estável em condições ambientais, podendo ser utilizada como material de partida para a síntese da magnetita e maghemita. É um semicondutor do tipo n , com um bandgap de 2,3 eV, onde a banda de condução é

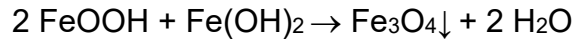
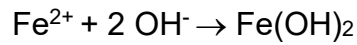
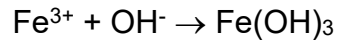
composta de orbitais d vazios de Fe^{3+} e a banda de valência consiste em orbitais de campo cristalino $3d$ ocupados de Fe^{3+} com mistura dos orbitais não ligantes de O $2p$. Como demonstrado na Figura 4a, os íons Fe^{3+} ocupam dois terços dos sítios octaédricos que são confinados pela rede de O compactada de forma hexagonal (WU *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 1993).

A magnetita (Fe_3O_4) tem a estrutura espinélio cúbico de face centrada, diferindo da maioria dos outros óxidos de ferro por conter ferro bivalente e trivalente. O Fe_3O_4 tem uma estrutura que consiste em uma matriz cúbica compacta de íons de óxido, onde todos os íons Fe^{2+} ocupam metade dos sítios octaédricos e os Fe^{3+} são divididos uniformemente pelos sítios octaédricos restantes e pelos sítios tetraédricos. Assim, Fe_3O_4 pode ser um semicondutor do tipo n e p . No entanto, Fe_3O_4 tem a menor resistividade entre os óxidos de ferro devido ao seu pequeno bandgap (0,1 eV) (WU *et al.*, 2015; BOXALL *et al.*, 1996).

A estrutura da maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) é cúbica. Os ânions de oxigênio dão origem a um arranjo cúbico compacto, enquanto os íons férricos são distribuídos em sítios tetraédricos (oito íons Fe por célula unitária) e sítios octaédricos (os íons Fe restantes e vacâncias). Portanto, a maghemita pode ser considerada como uma magnetita totalmente oxidada, e é um semicondutor do tipo n com um bandgap de 2,0 eV (WU *et al.*, 2015).

O óxido de ferro na forma de magnetita (Fe_3O_4) é o material mais empregado em materiais adsorventes devido a sua biocompatibilidade, forte superparamagnetismo, boa atividade catalítica e procedimento de síntese fácil (MARFÀ *et al.*, 2021). Muitas rotas de síntese têm sido relatadas na literatura para preparar óxido de ferro, como a coprecipitação, decomposição térmica e microemulsão. A síntese por coprecipitação é o método mais empregado por trabalhos relatados na literatura (FRANCISQUINI, SCHOENMAKER e SOUZA, 2015).

O método de coprecipitação é a síntese mais simples e eficiente para a obtenção de partículas magnéticas. Consiste em uma mistura estequiométrica de íons férricos e ferrosos em meio aquoso com pH básico de hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de amônio (NH_4OH), em atmosfera inerte à temperatura ambiente ou temperatura elevada, demonstrado pelas reações abaixo (RASHID *et al.*, 2020; FRANCISQUINI, SCHOENMAKER e SOUZA, 2015).



Na estrutura da magnetita, o íon ferro está presente em dois estados de oxidação ($\text{FeO}^{(2+)}$ e $\text{Fe}_2\text{O}_3^{(3+)}$), com estrutura inversa de espinélio e com íons Fe nos interstícios octaédricos, estes são responsáveis pela magnetização de saturação e pelo comportamento magnético do material. Contudo, a magnetita pode perder gradualmente suas propriedades magnéticas quando submetida há um meio de reações com pH inferior à 4,0, devido a facilidade de oxidação de ferro (II) em ferro (III) (MENDONÇA, *et al.*, 2019).

Assim, manter a estabilidade destes materiais por longos períodos, sem aglomeração, precipitação ou perda das propriedades magnéticas, são questões fundamentais para a aplicação. Uma das estratégias é a funcionalização da superfície do óxido de ferro com materiais orgânicos e inorgânicos (MENDONÇA *et al.*, 2019; WU, HE e JIANG, 2008). Essa alteração de superfície não apenas fornece diversos grupos funcionais, mas também estabiliza as partículas magnéticas e promove sua dispersão em diferentes matrizes de amostra. A funcionalização do óxido de ferro com materiais inorgânicos é geralmente realizada com sílica, metais, não metais, óxidos de metais e sulfetos. O óxido de ferro com a estrutura funcionalizada pode exibir novas propriedades físicas e químicas que serão essenciais para diversas aplicações (WU, HE e JIANG, 2008).

A funcionalização com sílica é a forma mais comum para a preparação de partículas de óxido de ferro funcionalizado. Em geral, as partículas magnéticas são revestidas em uma rede de sílica, originando as partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, e embora os grupos de hidroxila estejam na superfície do óxido de ferro, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ são mais comumente usados porque a camada de SiO_2 protege o núcleo magnético da oxidação ou dissolução em reações seguintes. Além disto, a proteção de sílica minimiza a formação de aglomerados e aumenta a biocompatibilidade destes materiais. Os grupos silanóis na superfície da sílica proporciona a funcionalização da superfície para posteriores modificações. É válido ressaltar que embora a proteção com sílica possa diminuir a magnetização do óxido de ferro, as propriedades

magnéticas do material ainda permanecem inalteradas para uma posterior aplicação (MARFÀ *et al.*, 2021).

Entretanto, estes adsorventes não apresentam seletividade ao analito de interesse, fator importante para os métodos de preparo de amostras. Considerando que a funcionalização do óxido de ferro com sílica possibilita efetuar modificações na superfície do material, uma atraente estratégia para melhoria de seletividade é a combinação de materiais magnéticos com polímeros molecularmente impressos (do inglês: *molecularly imprinted polymers*, MIPs) (MARFÀ *et al.*, 2021; ANSARI, 2017).

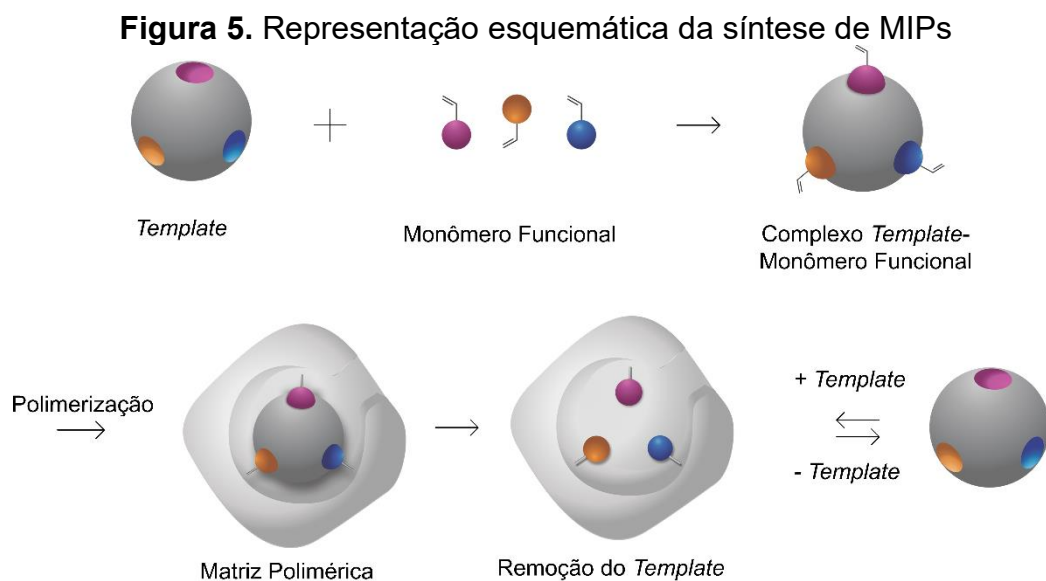
2.6 POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS

Os materiais adsorventes conhecidos por polímeros molecularmente impressos (MIPs) tem sido utilizados de forma recorrente na extração seletiva de diversas classes de substâncias conhecidas, como poluentes emergentes, em amostras complexas ambientais (água e solo), fluídos biológicos e alimentos (MARFÀ *et al.*, 2021; AZIZI e BOTTARO, 2020). Os MIPs são materiais reticulados sintetizados com uma estrutura tridimensional polimérica, a qual apresenta locais de reconhecimento molecular específicos complementares em forma, tamanho e grupos funcionais com o analito alvo (*template*), e que permitem a ligação de modo seletivo ou específico (MUSTAFA, KEIROUZ e LEESE, 2022; CHEN *et al.*, 2022; MARFÀ *et al.*, 2021; BHOGAL *et al.*, 2021; AZIZI e BOTTARO, 2020).

A síntese dos MIPs, consiste em solubilizar a molécula molde (*template*), o monômero funcional (MF), agente de ligação cruzada e o iniciador radicalar em um solvente porogênico. Durante o processo de impressão, o *template* forma um complexo estável com o MF que é posicionado espacialmente ao redor do *template* e a posição é fixada pela polimerização. Por fim, o polímero obtido é uma matriz com poros possuindo cavidades com estrutura tridimensional. Assim, a remoção do *template* do polímero por lavagem com solventes específicos ou por meio de clivagem química, resulta na liberação de sítios de ligação que são complementares em forma e tamanho ao *template* (MUSTAFA, KEIROUZ e LEESE, 2022; CHEN *et al.*, 2022; MARFÀ *et al.*, 2021; BHOGAL *et al.*, 2021).

O polímero resultante reconhece e se liga seletivamente ao *template*, que geralmente é o analito de interesse. O MIP sintetizado é quimicamente estável, robusto e resistente a uma ampla faixa de pH, solventes e temperatura. A capacidade

de reconhecimento molecular do MIP é investigada em relação ao polímero não impresso (do inglês: *Non Imprinted Polymer*, NIP). Este material é sintetizado nas mesmas condições do MIP, porém sem a adição do *template*, funcionando como um polímero controle. A classificação da impressão molecular é normalmente feita de acordo com a natureza das interações entre o MF e o *template* durante a polimerização (MUSTAFA, KEIROUZ e LEESE, 2022; CHEN *et al.*, 2022; MARFÀ *et al.*, 2021; BHOGAL *et al.*, 2021). Na Figura 5 é observado um esquema de síntese dos MIPs.



Fonte: Adaptado de MARFÀ *et al.*, (2021).

Atualmente, as pesquisas na área de tecnologia de impressão química têm sido voltadas para obtenção de novas rotas de síntese visando melhorias no desempenho adsorptivo e seletivo do adsorvente. A aplicação do material sintetizado é fator importante a ser considerado e a escolha dos reagentes adequados é essencial para a obtenção de um adsorvente com as propriedades desejadas (CHEN *et al.*, 2016).

Nos processos de impressão molecular a escolha do *template* é de extrema importância. O *template* deve ser quimicamente inerte, ter um grupo funcional adequado para interagir com o MF selecionado e ser estável sob as condições de polimerização, como alta temperatura e irradiação UV. A remoção do *template* após a polimerização também representa um fator crítico na escolha. Para facilitar a remoção, o MIP geralmente é lavado com soluções básicas ou ácidas, ou com uma mistura de solventes. Em algumas sínteses, pode ser necessário o aquecimento da solução de

lavagem para remoção do *template* e o emprego de mais de uma etapa de limpeza (CHEN *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2016; DENG e WANG, 2014).

O monômero funcional é o responsável pelas interações nos sítios de impressão, ou seja, é o responsável por fornecer grupos funcionais para o reconhecimento específico ao polímero, por meio das interações entre o *template* e o MF. Os volumes usados são geralmente em excesso com relação ao número de mols do *template*, favorecendo a formação da cavidade. Porém, o uso em excesso de MF pode aumentar a quantidade de ligações não específicas, o que diminui a seletividade do MIP (CHEN *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2016; DENG e WANG, 2014).

A escolha dos solventes porogênicos é ditada pela natureza da interação do *template* com o MF, e desempenham um papel importante na polimerização, pois atuam como meios de dispersão e agentes formadores de poros. A polaridade do solvente pode afetar a interação entre o *template* e o MF e, portanto, as propriedades de adsorção do MIP, especialmente em sistemas de interação não covalentes. A escolha adequada do solvente porogênico no complexo pré-polimerização favorece a formação de um MIP macro ou microporoso, pois o solvente não deve provocar interferências na interação *template*-MF pois caso isso aconteça, pode haver a formação de sítios de reconhecimento pequenos e pouco seletivos. Sendo assim, a baixa afinidade entre o solvente porogênico e o MF resultará na formação de poros maiores que favorecem a transferência de massa do analito aos sítios seletivos (CHEN *et al.*, 2022; SPELTINI *et al.*, 2017).

Cai e Gupta, (2004), descreveram a síntese do primeiro polímero molecularmente impresso para moléculas de TCs, no qual o MIP foi preparado usando ácido metacrílico como monômero funcional, TC com *template* e etileno glicol dimetacrilato (EGDMA) como reticulador. Os autores observaram que o MIP apresentou maior afinidade para a TC do que o NIP, porém o material adsorvente exibiu uma liberação lenta quando saturado com a molécula *template* de TC e este não foi aplicado em amostras reais, porém apresentou potencial de ser aplicado na liberação controlada do analito.

Suedee *et al.*, (2004), desenvolveram o segundo MIP para moléculas de TCs relatado na literatura. Este foi sintetizado visando avaliar a possibilidade de introduzir o reconhecimento múltiplo de MIPs usando uma mistura de TC e seus produtos de degradação como *templates*. Os resultados deste estudo mostraram que a impressão simultânea com TC e seus produtos de degradação como *template* geraram a

seletividade do material polimérico ao grupo de TCs. A alta afinidade para as TCs da membrana fabricada, aliada à sua rápida e simples fabricação, ofereceram boas possibilidades para sua aplicação em processos de separação de TCs.

A primeira aplicação em amostras reais de um MIP para TCs foi estudada por Caro *et al.*, (2005). Os pesquisadores desenvolveram um MIP para SPE (MISPE) sintetizado pela abordagem não covalente usando TC e OTC como *template* e ácido metacrílico como MF. Os materiais sintetizados foram aplicados em protocolos de SPE como adsorventes seletivos e o efeito de impressão e a seletividade dos MIPs foram confirmados para as moléculas *template*. Assim, o material adsorvente foi aplicado para a extração direta de TC e OTC de extratos de tecido renal de porco, com recuperações na ausência de uma etapa de limpeza de 66 % e 69 %, demonstrando a aplicabilidade MIPs em amostras biológicas complexas.

O aprimoramento da impressão molecular na síntese de novos materiais adsorventes apresenta diferentes abordagens para descrever as interações existentes entre *template* e o MF. As interações podem ser estabelecidas por ligações covalente, não-covalente e semi-covalente.

A síntese com impressão covalente utiliza-se de uma ligação covalente reversível para ligar o *template* com o MF. Após a polimerização, a ligação covalente é quebrada para liberar o *template* do polímero e formar a cavidade seletiva no material impresso, e no processo de religação, o *template* se associa novamente por meio da mesma ligação covalente ao MIP. Uma das vantagens desta abordagem é que a estequiometria dos complexos *template*-MF permite a síntese de polímeros com grupos de ligação localizados exclusivamente nas cavidades impressas, diminuindo a probabilidade de ligações não específicas (CHEN *et al.*, 2022; MARFÀ *et al.*, 2021).

Além disso, devido à alta estabilidade dos complexos durante a polimerização, as redes poliméricas resultantes possuem uma distribuição homogênea do sítio de ligação e seletividade maior do que as outras abordagens. Contudo, esta abordagem não é muito utilizada pois o processo de religação é lento e há um número pequeno de compostos com as funcionalidades necessárias para esta síntese, tornando-se bastante limitada devido a ligação covalente resultar em ligação e dissociação lenta, dificultando a extração do *template*, sendo necessário em muitos casos, procedimentos de hidrólise na eluição (CHEN *et al.*, 2022; MARFÀ *et al.*, 2021; AZIZI e BOTTARO, 2020; MARTÍN-ESTEBAN, 2013; MAYES e WHITCOMBE, 2005).

A síntese não covalente é o método mais utilizado para síntese de MIPs devido sua simplicidade, grande número de monômeros funcionais capazes de formar ligações não covalentes e a facilidade de remoção do *template* do polímero. É baseada na formação de interações não covalentes (ligações de hidrogênio, interações iônicas, forças de van der Waals) entre o *template* e o MF antes da polimerização, e que também irão atuar no processo de religação do *template*. Contudo, as interações *template* e MF são regidas por um processo de equilíbrio e, a fim de deslocar o equilíbrio para a formação do complexo *template*-MF, uma grande quantidade de MF é utilizada e, conseqüentemente, o excesso de monômeros livres é incorporado aleatoriamente na matriz polimérica, levando à distribuição heterogênea de diâmetros de partículas e sítios de ligação no polímero (CHEN *et al.*, 2022; MARFÀ *et al.*, 2021; AZIZI e BOTTARO, 2020; MARTÍN-ESTEBAN, 2013; MAYES e WHITCOMBE, 2005).

Uma tentativa de aliar as vantagens das técnicas de síntese covalente e não covalente, é a impressão molecular semi-covalente. Esta síntese combina uma ligação covalente durante a polimerização, enquanto a religação do *template* é baseada em ligações não covalentes. Desta maneira, este método alia as vantagens de alta afinidade e especificidade da ligação covalente, como o controle rigoroso da localização do grupo funcional e distribuição mais uniforme dos sítios de ligação, com as condições de reduzir a restrição cinética no processo de religação e facilitar o processo de eluição do analito da síntese não covalente (CHEN *et al.*, 2022; MARFÀ *et al.*, 2021; AZIZI e BOTTARO, 2020; CHEN *et al.*, 2016).

Uma outra vantagem da síntese semi-covalente, é que devido à variedade de interações estabelecidas entre o *template* e o MF antes do processo de polimerização e durante o uso do polímero, uma proporção menor de *template* e MF é necessário para garantir um polímero final com a melhor impressão. A razão molar entre o *template* e o MF usado é pequena, geralmente 1:1 ou 1:2, enquanto para a síntese não-covalente, as razões geralmente variam de 1:4 a 1:8, dependendo da afinidade do *template* com o MF (BELTRAN *et al.*, 2010). Porém, a desvantagem como na síntese covalente, está relacionada aos poucos MF adequados e a necessidade de realizar etapas adicionais na síntese para formar o complexo *template*-MF (MARFÀ *et al.*, 2021).

A síntese semi-covalente foi introduzida pela primeira vez por Whitcombe *et al.*, (1995), que sintetizaram um MIP com o MF éster 4-vinilfenilcarbonato se ligando

covalentemente a molécula *template* de colesterol durante a polimerização. A ligação estabelecida entre o *template*-MF neste caso, foi clivada por hidrólise básica, resultando na perda de CO₂ e na formação de um sítio de reconhecimento não covalente do MF contendo o grupo fenólico, capaz de interagir com o colesterol nos experimentos de religação por ligações de hidrogênio.

A estratégia de impressão semi-covalente também foi empregada para a síntese de MIPs para moléculas como compostos aromáticos policlorados (LÜBKE, WHITCOMBE e VULFSON, 1998), triazinas (CACHO *et al.*, 2006), testosterona (HE *et al.*, 2008) estrona (KI *et al.*, 2002; YANG *et al.*, 2004; KI e CHANG, 2006; WANG *et al.*, 2009), dietilestilbestrol (JUNG *et al.*, 2010), fenóis (QI *et al.*, 2010), orange II (ZHAN *et al.*, 2013), bisfenol A (YANG *et al.*, 2015; GÜNEY e GÜNEY, 2017) e colesterol (EFFTING *et al.*, 2022).

Os isocianatos (caracterizados por conter um grupo funcional com átomos -N=C=O) são os MF mais empregados em sínteses de MIPs por abordagem semi-covalente para os diferentes *templates*. A reação para formação do complexo *template*-MF ocorre pela reação entre o grupo isocianato do MF com o grupo fenol do *template*, formando uma ligação uretana estável a temperatura ambiente, mas que em altas temperaturas pode sofrer uma clivagem. Para a remoção do *template*, no procedimento de clivagem térmica, uma mistura de dimetilsulfóxido (DMSO) e água em altas temperatura é utilizada, pois nestas condições a quebra da ligação uretana é favorecida e assim, o grupo isocianato dissociado é convertido à um grupo amino na presença de água (KI *et al.*, 2002; KI e CHANG, 2006; WANG *et al.*, 2009; GÜNEY; GÜNEY, 2017; EFFTING *et al.*, 2022).

Diversas estratégias têm sido desenvolvidas para a síntese de MIPs. A escolha do procedimento é influenciada pelas características que se deseja do material com vistas à sua aplicação (CHEN *et al.*, 2022).

A polimerização por radicais livres (FRP) é um dos mecanismos de síntese mais populares e bem desenvolvidos usados na preparação de MIPs sendo utilizado em diferentes métodos de impressão, incluindo polimerização por precipitação, emulsão e em suspensão, e polimerização em superfície. A síntese por polimerização de radicais livres envolve um MF que contenha uma dupla ligação, e o crescimento da cadeia polimérica ocorre devido a ruptura dessa dupla ligação. Dessa forma os MF são adicionados, um por um, a cadeia polimérica. As principais vantagens desse tipo de polimerização é que esta pode ocorrer em condições brandas de reação, como

pressão e temperatura ambiente, por exemplo (CHEN *et al.*, 2022; TARLEY, SOTOMAYOR e KUBOTA, 2005).

No método de polimerização superficial, o *template* e o monômero funcional são solubilizados em solvente porogênico formando um complexo pré-polimerizado, e em seguida, a polimerização é realizada na superfície de um substrato sólido (sílica, quitosana, magnetita etc.). Posteriormente é realizada a remoção do *template* da camada polimérica por métodos físicos ou químicos resultando na formação de cavidades tridimensionais na superfície do substrato sólido. A grande área de superfície dos MIPs sintetizados por essa estratégia permite uma cinética de ligação rápida e aumenta o acesso do analito ao adsorvente (CHEN *et al.*, 2022).

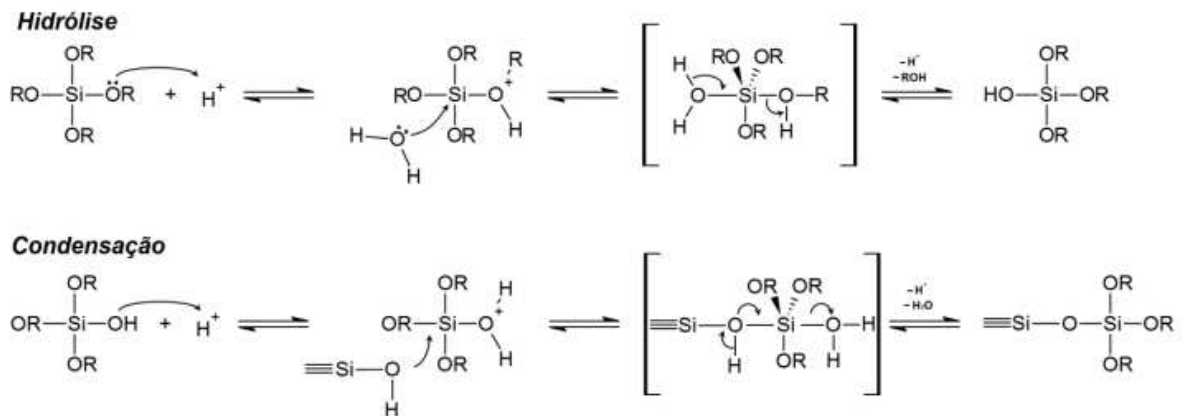
A proposta de impressão molecular superficial é capaz de gerar uma camada de material impresso na superfície de um suporte. Desta maneira, as cavidades de reconhecimento molecular são posicionadas perto da superfície e dentro de cavidades do material suporte, sendo benéfico para a remoção eficaz das moléculas *template* e com uma melhora na acessibilidade das cavidades no processo de religação. Ainda, os MIPs sintetizados sobre suportes sólidos tendem a ser mais robustos fisicamente, além de contribuírem para uma fácil remoção do *template*, alta capacidade de ligação e rápida cinética, devido a acessibilidade mais fácil e distribuição uniforme dos locais de reconhecimento, características fundamentais para o desempenho dos MIPs (WANG *et al.*, 2019). Uma das técnicas de impressão de superfície é o método sol-gel, baseado em precursores de MF inorgânicos com um esqueleto de sílica no qual, sob condições moderadas de catálise ácida ou básica, a hidrólise e a condensação de MF de silano podem ser alcançadas, formando uma rede polimérica inorgânica (LI *et al.*, 2016).

Assim, com base na natureza das matrizes poliméricas, os MIPs são geralmente classificados em orgânicos, inorgânicos ou híbridos orgânico-inorgânicos. Os MIPs à base de polímeros orgânicos são amplamente preparados para aplicação devido à sua estabilidade de pH, muitos MF disponíveis e por apresentarem uma rede polimérica rígida altamente reticulada, entretanto os MIPs orgânicos podem sofrer encolhimento ou dilatação se os polímeros forem expostos a diferentes solventes o que pode alterar consideravelmente a morfologia e a estrutura da rede polimérica e diminuir a capacidade de reconhecimento em relação ao modelo (WEI *et al.*, 2019; WEI *et al.*, 2017).

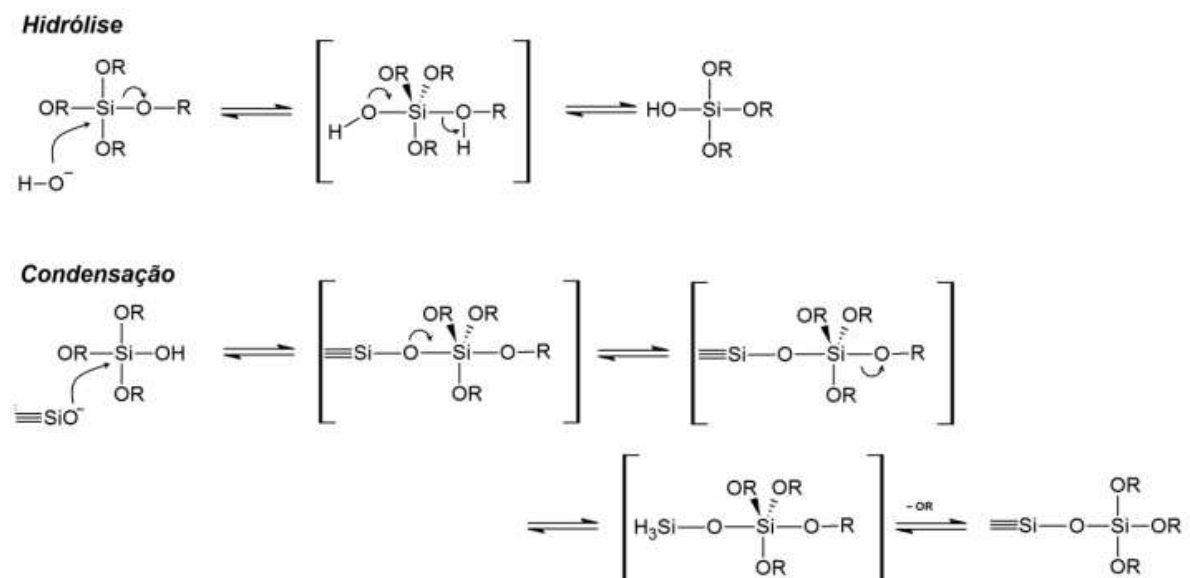
Em contraponto, MIPs inorgânicos, têm resistência mecânica ideal, além de maior área superficial e porosidade. O processo de obtenção de polímero molecularmente impresso inorgânico é simples. As partículas de sílica são geralmente sintetizadas pelo processo sol-gel, que envolve duas etapas de síntese: a hidrólise de um grupo silano para dar origem aos grupos silanóis (Si-OH) na presença de um catalisador (ácido ou básico) (Figura 6) e a condensação posterior de silanóis (–Si–O–Si–) para formar uma rede polimérica (WEI *et al.*, 2019; WEI *et al.*, 2017).

Figura 6. Mecanismos gerais de hidrólise e condensação de precursores de alcoxi-silano para formar sílica em (a) condições catalisadas por ácido e (b) condições catalisadas por base

a) Catálise ácida: pH < 2



b) Catálise básica: pH > 2



Fonte: Adaptado de Pereira, (2019).

Em condições de catálise ácida, a hidrólise envolve a protonação do grupo alcóxido, seguido de ataque nucleofílico por água para formar um intermediário pentacoordenado. Assim, em condições ácidas, o próton é atacado pelo átomo de oxigênio do grupo alcóxido de silício. Este fenômeno causa uma mudança da nuvem eletrônica da ligação Si-O em direção ao oxigênio e, como resultado, a carga positiva do átomo de Si aumenta. A carga parcial positiva sobre o grupo alcóxido confere-lhe o melhor caráter de grupo abandonador. Enquanto isso, sob condições de catálise básica, o mecanismo de hidrólise envolve o ataque nucleofílico do ânion hidróxido sobre o átomo de silício, resultando em um intermediário pentacoordenado negativamente carregado seguido de deslocamento de um ânion alcóxido. Esse ataque é dirigido ao átomo de Si pelo fato deste possuir alta carga positiva (PEREIRA, 2019).

Para a formação de cavidades específicas no interior da sílica, é necessário adicionar reagentes que ligam o analito aos precursores silanóis. A maioria dos estudos da literatura faz uso do 3-aminopropiltriétoxissilano (APTMS) como um precursor básico para ligar o molde da molécula na presença de tetraetilortosilicato (TEOS) como um reticulador para formar uma rede polimérica de sílica impressa molecularmente. O processo de síntese é feito a baixas temperaturas (geralmente entre 0 °C e 100 °C). Este processo melhora as propriedades físicas, químicas e mecânicas do polímero em comparação com a síntese orgânica, além de permitir controlar fatores como a porosidade, cristalinidade, temperatura estabilidade e resistência à ação química, tornando o procedimento de síntese muito mais simples (BRAGA, ROSA e DIAS, 2014).

Na literatura, encontram-se trabalhos reportando a síntese de MIPs inorgânicos aliados a estratégia de impressão semi-covalente. O MIP sintetizado por KI *et al.*, (2002) e Ki e Chang, (2006) utilizaram a estrona como *template* e o 3-triethoxisilil propil isocianato (ICPTES) como MF. Wang *et al.*, (2009), também sintetizaram um MIP para estrona com o ICPTES, com a diferença neste caso o MIP foi sintetizado sob nanopartículas magnéticas. O ICPTES também foi utilizado como MF na síntese de MIPs para a testosterona por He *et al.*, (2008), dietilestilbestrol por Jung *et al.*, (2010), orange II por Zhan *et al.*, (2013), bisfenol A por Yang *et al.*, (2015) e Güney e Güney, (2017), e para o colesterol por Effting *et al.*, (2022).

A aplicação de MIPs em procedimentos de SPE, com a vantagem do adsorvente ser seletivo na pré-concentração do analito de interesse tem sido bastante

reportada. Porém, visando um método de preparo de amostras mais rápido e eficiente, a associação de materiais magnéticos com MIPs em procedimentos de MDSPE também tem ganhado destaque. A associação de materiais magnéticos e MIPs é designada como polímeros magnéticos molecularmente impressos (MMIPs).

Os MMIPs são materiais sintetizados por um procedimento no qual a impressão molecular é realizada na presença de partículas magnéticas, e o material resultante confere propriedade sinérgicas de ambos os materiais, incluindo alta seletividade e boa estabilidade, e são adequados para a adsorção específica e separação rápida do material do meio de análise por um ímã externo sem necessidade de uma etapa de centrifugação (MARFÀ *et al.*, 2021; ANSARI, 2017; KAISER *et al.*, 2016; CHANG, CHEN e LI, 2012).

2.7 POLÍMEROS MAGNÉTICOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS

Devido as vantagens dos MIP, principalmente pela seletividade ao analito de interesse, e dos materiais magnéticos pela separação de fases rápida com campo magnético externo, estudos da literatura têm reportado a junção dos materiais em um único adsorvente chamado polímero magnético molecularmente impresso (MMIPs). Os MMIPs atraíram atenção devido à sua capacidade de reconhecimento seletivo, estabilidade magnética, preparação relativamente simples e de baixo custo, sendo amplamente utilizados na MDSPE (LI e HO, 2018), pois são capazes de separar os analitos alvo de forma rápida e mais eficiente do que os MIPs tradicionais (ZHOU *et al.*, 2020).

A síntese de MMIPs é realizada após a síntese de um material magnético, geralmente o óxido de ferro, usualmente obtido pelo método de coprecipitação. Posteriormente para a preservação das características magnéticas deste material ocorre funcionalização da superfície com sílica. Os MMIPs são sintetizados na superfície das partículas magnéticas ou na presença das partículas formando um composto em que as partículas magnéticas ficam dispersas na rede polimérica (ANSARI e KARIMI, 2017; KWAŚNIEWSKA, GADZAŁA-KOPCIUCH E CENDROWSKI, 2015).

Os MMIPs sintetizados na superfície de partículas magnéticas podem formar diferentes arranjos, dentre eles do tipo *core-shell* e partículas dispersas. O formato *core-shell* é aquele em que um sistema é constituído por um núcleo (*core*) recoberto

por outro material que favoreça o processo de adsorção, denominado como casca (*shell*). Em MMIPs core-shell, devido à sua estrutura que tem pequena dimensão com elevada razão superfície/volume, a maioria dos locais impressos está situada na superfície ou na proximidade da superfície, que oferecem uma distribuição alta e uniforme de locais de ligação na superfície, ocasionando uma remoção e religação rápida e eficiente das moléculas *template* (DINC, ESEN e MIZAIKOFF, 2019; GHOSH CHAUDHURI e PARIA, 2012). Porém, quando a rede polimérica formada na superfície é muito fina, resulta em menos locais de ligação, limitando a aplicação do adsorvente (NIU, PHAM-HUY e HE, 2016).

Em contraponto, na síntese de MMIPs com a dispersão das partículas magnéticas pela rede polimérica a estrutura apresenta vários núcleos magnéticos revestidos. Neste tipo de síntese, não há a formação dos sítios de reconhecimento apenas na superfície da partícula, eles estão distribuídos por toda a rede polimérica, favorecendo assim a adsorção do analito e aumentando a capacidade adsortiva do MMIP, além da rápida separação da fase extratora com a fase líquida do meio de análise (DINC, ESEN e MIZAIKOFF, 2019; GHOSH CHAUDHURI e PARIA, 2012).

Nesse procedimento, primeiramente o *template* é dissolvido juntamente ao MF para a formação do complexo *template*-monômero funcional. A mistura resultante é preparada para a polimerização e o óxido de ferro protegido com o revestimento de sílica é misturado aos componentes de síntese do MIP. A reação é mantida sob agitação e em atmosfera de nitrogênio para retirada do oxigênio do meio reacional, sendo controlada a temperatura da reação. Depois da polimerização, o material sintetizado é lavado com solventes adequados diversas vezes até que a molécula *template* tenha sido completamente removida. Por fim, o material é seco nas condições apropriadas e utilizado em experimentos de MDSPE ou como acoplamento de sensores eletroquímicos (ANSARI e KARIMI, 2017; KWAŚNIEWSKA, GADZAŁA-KOPCIUCH E CENDROWSKI, 2015).

Na literatura, encontram-se trabalhos abordando a síntese de MMIPs aplicados a MDSPE para diferentes moléculas *template*, incluindo as TCs. A preparação de MIPs com materiais magnéticos para a extração direta de antibióticos tetraciclinas de alimentos como ovos e amostras de tecido de frango foi avaliada por CHEN *et al.*, (2009). Na síntese a magnetita foi preparada pelo método de coprecipitação e revestida com um invólucro hidrofóbico com ácido oléico, para ser utilizada como componente magneticamente suscetível. O complexo *template*-MF foi formado entre

a OTC e ácido metacrílico como MF orgânico, estireno e divinilbenzeno como componentes da matriz polimérica, formando uma solução de pré-polimerização. A magnetita hidrofóbica e azobisisobutironitrila foram adicionados ao meio reacional.

O MMIP sintetizado foi aplicado na separação de TCs realizando o procedimento de extração e limpeza em uma única etapa com a agitação da amostra na presença do solvente de extração e adsorvente e posteriormente, separando o polímero facilmente com um campo magnético externo. Após o isolamento magnético e dessorção dos analitos, estes foram detectados e quantificados por LC-MS/MS. A viabilidade deste método foi validada pela análise de amostras de ovos, comparando os resultados com os obtidos pelo método clássico (extração por solvente, centrifugação e posterior limpeza e concentração por SPE). As recuperações variaram de 72,8 % a 96,5 % (com desvios padrão relativos na faixa de 2,9 a 12,3 %). Segundo os autores, o método proposto com MMIP reduziu as complicações do método do método clássico (extração com solvente, centrifugação e posterior limpeza e concentração por SPE), com mínimo manuseio de amostra e menor consumo de solvente, sendo promissora para a determinação de resíduos de contaminantes em amostras de alimentos.

Kong *et al.*, (2012), propuseram a síntese de um polímero magnético molecularmente impresso preparado usando Fe_3O_4 sintetizado por coprecipitação, como o componente magneticamente suscetível, OTC e CTC como as moléculas de *template* misto, e ácido metacrílico como o MF orgânico. O material sintetizado pode ser separado das amostras de ovos e mel pré-tratadas com um campo magnético externo e as TCs foram detectadas e quantificadas por HPLC-DAD. As recuperações obtidas foram de 76,2 % a 95,8 % com desvios padrão relativos na faixa de 3,1–13,2 %. A viabilidade deste método foi comprovada pela análise de amostras de ovos e mel. Comparado com o método clássico que usa mais etapas, incluindo extração de solvente, centrifugação, limpeza e concentração por SPE, o método proposto diminuiu a complexidade da análise.

Dai *et al.*, (2012), sintetizaram nanopartículas molecularmente impressas com suscetibilidade superparamagnética por polimerização em emulsão radicalar por transferência de átomo (ATREP) para reconhecimento de TC. As nanopartículas de Fe_3O_4 sintetizadas por decomposição térmica foram modificadas por γ -metacriloxipropiltrimetoxissilano (KH-570) (Fe_3O_4 -KH570), e este foi usado como monômero de copolímero magneticamente suscetível. A pré-polimerização do ácido

metacrílico e TC foi realizada com dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA) por polimerização por emulsão. O material desenvolvido apresentou potenciais para aplicações práticas em amostras alimentícias para determinação de resíduos de TCs, com boa sensibilidade e estabilidade magnética. A capacidade de adsorção do material impresso mostrou-se superior ao do polímero não-impresso. Os resultados dos experimentos de reconhecimento seletivo demonstraram excelente afinidade e seletividade para TC em relação aos antibióticos competitivos cefalexina e sulfametazina.

Ma *et al.*, (2017), produziram um *core-shell* de compósitos magnéticos (Fe_3O_4) sintetizado por coprecipitação e revestidos com uma camada de quitosana (CTS) sobre a superfície. Os polímeros termorresponsivos e magnéticos impressos molecularmente (TMMIPs) foram preparados por polimerização por precipitação *in situ*. Os TMMIPs foram sintetizados usando TC como *template*, ácido metacrílico (MAA) como monômero funcional, N -isopropilacrilamida (NIPAM) como monômero termicamente responsivo, dimetacrilato de etilenoglicol (EGDMA) como monômero de reticulação e AIBN como iniciador. Os TMMIPs apresentam boa resposta à temperatura, sensibilidade e estabilidade magnética, seletividade ao *template* em relação ao cloranfenicol e a ciprofloxacina, além da possibilidade de reutilização, tornando-os possíveis na aplicação para adsorção e liberação controlada de antibióticos TCs.

Xu *et al.*, (2018), prepararam polímeros magnéticos molecularmente impressos com albumina de soro bovino (BSA) e dopamina como monômeros bifuncionais. As nanopartículas de Fe_3O_4 amino-funcionalizadas ($\text{Fe}_3\text{O}_4@NH_2$) foram sintetizadas por reação solvotérmica e o MIP foi sintetizado com TC como *template*. Este material apresentou bom magnetismo, cinética de adsorção rápida, alta capacidade de ligação e excelente propriedade de regeneração e foi aplicado para determinar traços de TCs em amostras de leite com ensaios de adição e recuperação, obtendo recuperações de TCs na faixa de 84,1–95,8 % com desvios padrão relativos inferiores a 6,7 %.

Gao *et al.*, (2020), sintetizaram nanopartículas poliméricas magnéticas de impressão molecular *core-shell* (MMIP NPs) para a adsorção e o isolamento de tetraciclina de matrizes alimentares. Neste trabalho, nanopartículas magnéticas foram sintetizadas pelo método de coprecipitação e revestidas com grupos carboxílicos terminais ($\text{Fe}_3\text{O}_4@COOH$) usando ácido cítrico. A polimerização na superfície do

Fe₃O₄@COOH com TC, ácido metacrílico, etilenoglicol dimetacrilato e 2,2-Azobisisobutironitrila como *template*, MF, agente reticulante e iniciador radicalar, respectivamente, resultaram em um material eficiente para extração de TCs em amostras de leite com recuperações satisfatórias de 91,14 para 104 % com os desvios padrão relativos inferiores a 8,1 % em ensaios de adição e recuperação.

Também utilizados na eletroquímica a aplicação de MMIPs é feito por meio de sensores eletroquímicos fornecendo métodos de detecção eficientes para a molécula *template*. A propriedade magnética facilita a incorporação dos materiais na superfície do eletrodo. Zeb *et al.*, (2021), desenvolveram um sensor biomimético para a determinação de TCs. As partículas magnéticas (Fe₃O₄) foram sintetizadas por coprecipitação e revestidas com sílica por meio da reação com tetraetoxisilano (TEOS) formando partículas de Fe₃O₄@SiO₂, que foram modificadas com metacriloxipropiltrimetoxisilano (MPS). O polímero impresso foi sintetizado usando TC como *template*, ácido acrílico como monômero funcional, etileno-glicol-dimetacrilato como reticulador e 2,2 azobisisobutironitrila como iniciador radicalar. A detecção de TC foi realizada em condições otimizadas usando voltametria de onda quadrada com o material em pasta de carbono modificada. Os resultados obtidos indicaram que o sensor eletroquímico é altamente eficiente para determinação de TC, e este sensor foi aplicado com sucesso em amostras comerciais de leite cru com taxas de recuperação variando de 93 a 103 %. Os resultados obtidos mostram que a técnica eletroquímica proposta é adequada para aplicação na determinação de TC.

A revisão da literatura, permite inferir que os MMIPs reportados para TCs foram sintetizados a partir de uma abordagem não-covalente, uma vez que, o principal MF utilizado nessas sínteses é o ácido metacrílico, que interage com as TCs por ligação de hidrogênio, ou seja, ocorre uma ligação não-covalente entre o *template* e o MF. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um novo MMIP para TCs, sintetizado por meio da abordagem semi-covalente através da ligação termicamente reversível entre OTC (*template*) e 3-triethoxisilil propil isocianato (ICPTES) (monômero funcional inorgânico). A reação para formação do complexo *template*-MF ocorreu pela reação entre o grupo isocianato do MF com o grupo hidroxila do *template*, formando uma ligação uretana estável a temperatura ambiente, mas que em altas temperaturas sofre clivagem.

Para essa clivagem térmica, foi utilizado uma mistura de dimetilsulfóxido (DMSO) e água a 160 °C, pois o DMSO em alta temperatura favorece a quebra da

ligação uretana e assim, o grupo isocianato dissociado é convertido à um grupo amina na presença de água. Os grupos aminos resultante na estrutura do MMIPs, permitem que nos experimentos de religação da molécula *template* ao adsorvente ocorram por meio de ligações hidrogênio.

Ainda, o MMIP foi proposto com partículas magnéticas dispersas na rede polimérica. Esta característica é importante, pois os sítios de impressão química não são sintetizados apenas na superfície da partícula, mas também no seio da solução, originando sítios seletivos dispersos por todo o adsorvente, proporcionando uma rápida separação da fase extratora com a fase líquida, além de boas capacidades adsortivas. Os materiais sintetizados foram caracterizados por diversas técnicas e aplicados em experimentos de MDSPE para determinação de TCs em amostras alimentícias e de águas superficiais.

3. OBJETIVOS GERAIS

Sintetizar, caracterizar e avaliar o desempenho analítico do polímero magnético molecularmente impresso como material adsorvente em extração em fase sólida magnética dispersiva para a extração e pré-concentração do *template* oxitetraciclina e seus análogos estruturais (CTC, DC e TC), e determinação por HPLC-DAD em amostras de águas superficiais e alimentícias.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar em etapas o polímero magnético molecularmente impresso ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$) para extração e pré-concentração de oxitetraciclina e seu polímero controle não impresso ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$);
- Caracterizar os materiais sintetizados utilizando técnicas como espectroscopia vibracional de infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR), fisiossorção de N_2 , análise termogravimétrica (TGA), medidas de magnetização (VSM), difração de raios-X (XRD), microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e microscopia eletrônica de varredura (SEM).
- Avaliar o efeito de impressão do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em relação ao $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$;
- Avaliar a capacidade máxima adsortiva do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ empregando estudo cinéticos e isotermas de adsorção;
- Avaliar a influência do solvente, pH da solução, massa do material e tempo de vórtex na adsorção de OTC pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$;
- Avaliar os parâmetros para pré-concentração da OTC;
- Determinar os parâmetros analíticos do método proposto;
- Aplicar o método desenvolvido na quantificação de OTC em amostras de leite e água superficial;
- Avaliar o desempenho adsortivo e os parâmetros analíticos do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ frente aos análogos estruturais das TCs.
- Aplicar o método desenvolvido na quantificação das TCs em amostras leite.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados durante os experimentos foram de grau analítico e sem purificação prévia. Foram utilizados: cloreto de ferro III ($\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), cloreto de ferro II ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), tetraetoxisilano (TEOS, Sigma-Aldrich $\geq 98\%$), metassilicato de sódio pentahidratado ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), 3-triethoxisilil propil isocianato (ICPTES, Sigma-Aldrich $\geq 99,0\%$), 3-aminopropil triethoxisilano (APTES, Sigma-Aldrich $\geq 99\%$), oxitetraciclina (OTC, Sigma-Aldrich $\geq 98,0\%$), ácido clorídrico (HCl, Panreac, 37,0%), ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$, Sigma-Aldrich $\geq 99,0\%$), metanol (MeOH, Sigma-Aldrich $\geq 99,0\%$), etanol (EtOH, Sigma-Aldrich $\geq 99,0\%$), acetonitrila (ACN, Sigma-Aldrich $\geq 99,0\%$) e tetrahidrofurano anidro (THF, Sigma-Aldrich $\geq 99,0\%$), ácido oxálico ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, Carlo Erba, 98,0%) e dimetilsulfóxido (DMSO, Synth 99,0%).

Os padrões para estudo da seletividade foram paracetamol (Sigma-Aldrich $\geq 98,0\%$), hidroquinona (Analítica, 98,0%) e ciprofloxacina (USP, $\geq 98,0\%$). O N_2 utilizado foi adquirido da White Martins (99,99%). O pH das soluções e amostras foi ajustado com soluções de hidróxido de sódio (NaOH, Vetec, 99,0%), e/ou ácido clorídrico (HCl, Panreac, 37,0%), preparadas com diluição apropriada dos respectivos reagentes concentrados. Os padrões dos análogos estruturais foram tetraciclina (TC, Sigma-Aldrich $\geq 98,0\%$), clortetraciclina (CTC, Sigma-Aldrich $\geq 98,0\%$) e doxiciclina (DC, Sigma-Aldrich $\geq 98,0\%$).

Para o preparo da solução tampão McIlvaive foram utilizados ácido cítrico monohidratado da marca Synth ($\geq 98,0\%$), hidrogenofosfato dissódico dihidratado da marca Synth ($\geq 98,0\%$) e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) da marca Synth ($\geq 98,0\%$). As soluções foram preparadas em água ultrapura proveniente de um sistema de purificação Elga Purelab Máxima (High Wycombe, Bucks, UK), resistividade 18,2 $\text{M}\Omega \text{ cm}$ e filtradas em filtro de teflon[®] 0,45 μm .

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

As determinações cromatográficas foram realizadas empregando um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu modelo LC-20AD com detector de arranjo de diodos (DAD) (Tóquio, Japão), constituído por bomba de alta pressão LC-

20AT, forno de coluna CTO-20A e módulo de controle CBM-20, detector do tipo arranjo de fotodiodos SPD-M20A, com varredura espectral de 190 a 400 nm.

A coluna cromatográfica utilizada foi uma C₁₈ (Phenomenex-250 mm x 4.5 mm, tamanho de partícula de 5 µm) e pré-coluna (Phenomenex®, 4.0 mm x 30 mm i.d., 5 µm), à 40 °C, operando em modo isocrático, usando como fase móvel acetonitrila e ácido oxálico 0,01 mol L⁻¹ na proporção de 22,5/77,5 (v/v), a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹ e volume de injeção de 20,0 µL e detecção em 365 nm (adaptado de COUTINHO *et al.*, 2014). A aquisição e processamento dos dados foram realizados com o auxílio do Software Shimadzu LC Solution (Quioto, Japão).

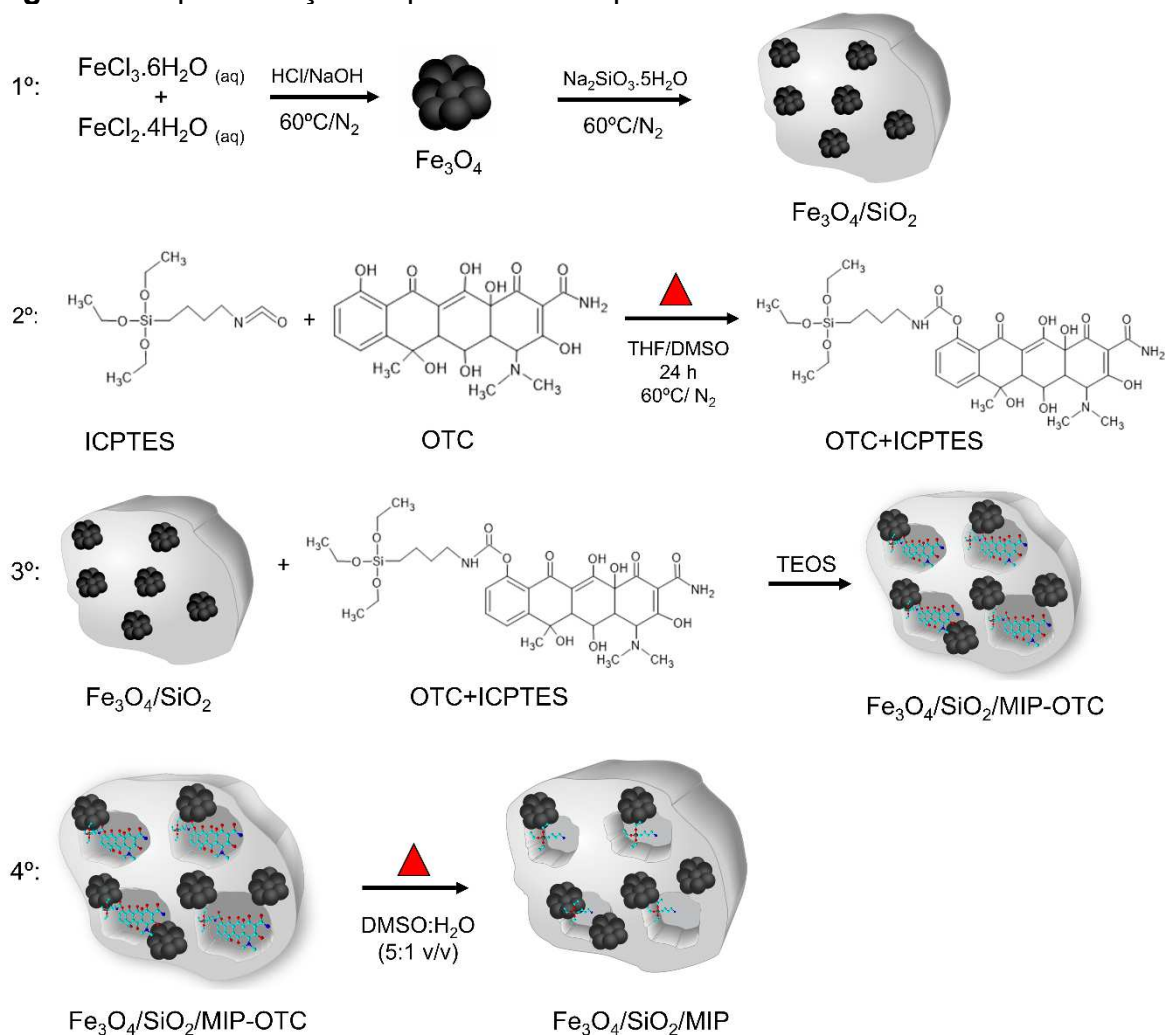
Todas as pesagens foram feitas utilizando balança analítica (Marte, Modelo AY220), com precisão de ± 0,1 mg. As medidas de pH das soluções foram feitas com um pHmetro Metrohm® pH827 lab digital (Herisau, Switzerland). Foram utilizadas micropipetas volumétricas de volumes variáveis com capacidade máxima de 200, 1000 e 5000 µL, sendo que todas continham ponteiros descartáveis de polietileno.

A filtração em seringa foi realizada com filtro de membrana de Nylon® 0,45 µm. Para a escolha do filtro, uma solução com concentração conhecida foi percolada pelo filtro e analisado por HPLC-DAD para verificar alguma interferência na determinação e quantificação das TCs, sendo observado que este não adsorvia os analitos durante a etapa de filtração, sendo posteriormente utilizado em todas as etapas de filtragem do eluato.

4.3 PROCEDIMENTO DE SÍNTESE DOS MATERIAIS

A síntese dos materiais foi realizada em etapas, iniciando com a obtenção das partículas magnéticas de óxido de ferro (Fe₃O₄), seguido da proteção com sílica (Fe₃O₄/SiO₂) e posterior polimerização na superfície do óxido de ferro com sílica (Fe₃O₄/SiO₂/MIP). Um material comparativo sem a impressão química (Fe₃O₄/SiO₂/NIP) também foi sintetizado. Uma representação esquemática dos procedimentos de síntese dos materiais pode ser observada na Figura 7.

Figura 7. Representação esquemática dos procedimentos de síntese dos materiais



Fonte: o autor

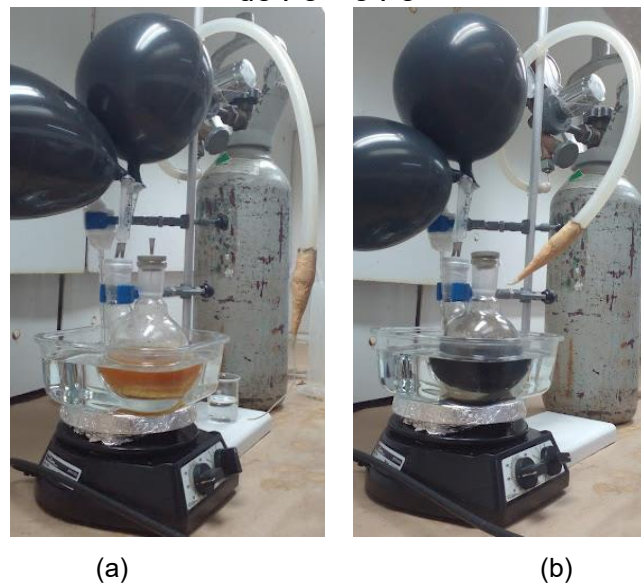
4.3.1 Síntese do óxido de ferro (Fe_3O_4)

As partículas magnéticas de Fe_3O_4 foram obtidas pelo método de coprecipitação química de Fe(II) e Fe(III) descrito na literatura com algumas modificações (ZHAO *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2006). Em um balão de fundo redondo de 2 bocas, adicionou-se 25,0 mL de HCl 1 mol L⁻¹, 25,0 mL de H₂O ultrapura fervida (resfriada a temperatura ambiente) e 6,5 g de cloreto de ferro hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Manteve-se a mistura de reação sob atmosfera de N₂, em agitação magnética e a temperatura de 60° C com banho de glicerina, conforme demonstrado na Figura 8a.

Em um balão de fundo redondo de uma boca adicionou-se 3,97 g de cloreto de ferro tetra hidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e 25,0 mL de água ultrapura fervida (resfriada a

temperatura ambiente), em atmosfera de N_2 . A água ultrapura é fervida para a remoção completa de O_2 do meio aquoso evitando a oxidação de Fe^{2+} em Fe^{3+} . A solução obtida foi adicionada ao balão de fundo redondo de 2 bocas com auxílio de uma seringa descartável. O sistema foi mantido sob agitação constante, com temperatura controlada através do banho de glicerina em $60\text{ }^\circ\text{C}$ e em atmosfera de N_2 . Utilizando uma seringa, $250,0\text{ mL}$ de $NaOH\ 1,5\text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados ao meio reacional e o sistema permaneceu em agitação, aquecimento em banho de glicerina ($60\text{ }^\circ\text{C}$) e em atmosfera de N_2 por 40 min , conforme apresentado na Figura 8b. Decorrido o tempo, o sistema foi aberto e o material precipitado foi lavado com água ultrapura até $pH\ 7,0$. O material lavado permaneceu em suspensão aquosa e em atmosfera de N_2 aguardando posterior uso.

Figura 8. Procedimento de síntese do Fe_3O_4 pelo método de coprecipitação química de Fe^{2+} e Fe^{3+}



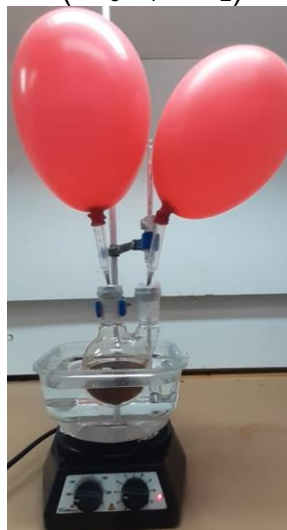
Fonte: o autor

4.3.2 Proteção do óxido de ferro com sílica (Fe_3O_4/SiO_2)

Para revestir o Fe_3O_4 com SiO_2 , $2,0\text{ gramas}$ de Fe_3O_4 foram dispersas em $200,0\text{ mL}$ de água ultrapura fervida, e em seguida adicionados com auxílio de uma seringa $40,0\text{ mL}$ de solução de metasilicato de sódio pentahidratado ($Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$) $1,0\text{ mol L}^{-1}$. O pH foi ajustado para $6,0$ com solução aquosa $1,0\text{ mol L}^{-1}$ de HCl . Manteve-se a mistura de reação sob agitação magnética e a temperatura de 60° C com banho óleo sob atmosfera de N_2 por $3,0\text{ h}$, conforme observado na Figura 9. O

sólido obtido foi lavado com água ultrapura até pH neutro e seco em estufa à 60° C por 24,0 h.

Figura 9. Procedimento de síntese do revestimento do óxido de ferro com sílica ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$)



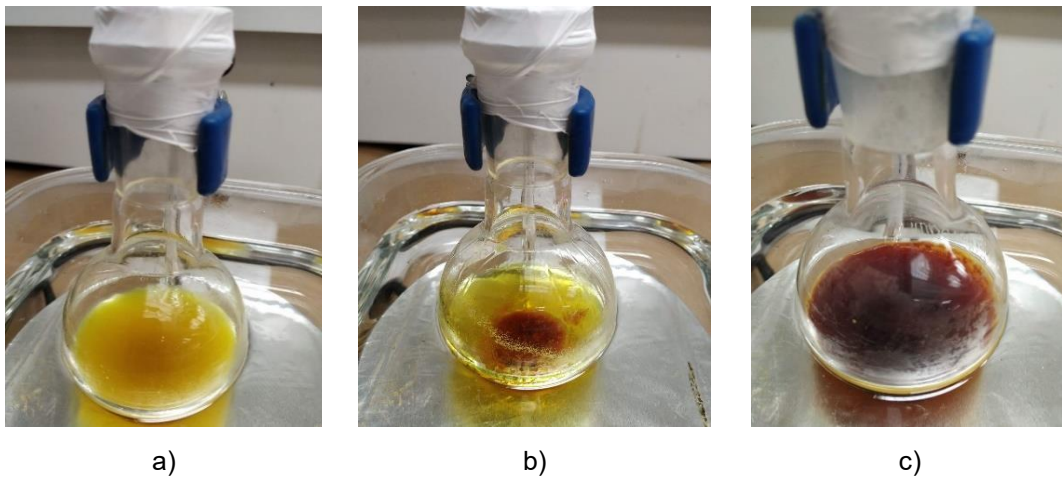
Fonte: o autor

4.3.3 Polimerização na superfície do óxido de ferro com sílica ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$)

A polimerização na superfície do óxido de ferro recoberto com a sílica foi realizada pelo método descrito por WANG *et al.*, (2009) e GÜNEY e GÜNEY, (2017), com algumas adaptações. Inicialmente, realizou-se a ligação do *template* oxitetraciclina (OTC) ao monômero funcional 3-triethoxisilil propil isocianato (ICPTES) via ligação covalente.

Em um balão de reação de 250,0 mL, $6,5 \times 10^{-3}$ mol (3,0 g) de OTC ($\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9$) e $13,0 \times 10^{-3}$ mol de ICPTES (3,4 mL) foram dissolvidos em 30,0 mL de tetrahydrofurano anidro (THF) com 2,0 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), conforme Figura 10a. A solução foi submetida ao aquecimento por 24 horas sob fluxo de N_2 a 60 °C em banho de glicerina, conforme demonstrado na Figura 10b. Decorrido o tempo (Figura 10c), o solvente foi evaporado em chapa de aquecimento até um líquido viscoso ser formado. O produto OTC-ICPTES foi dissolvido em 30,0 mL de metanol, seguido da adição de TEOS (4,3 mL) e 1,5 g de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$. A mistura foi levada para banho ultrassônico por 30 min, seguido da adição de HCl 1,0 mol L^{-1} . A solução foi mantida sob agitação por mais 24,0 h. O material obtido foi centrifugado, lavado alternadamente com etanol e água ultrapura e depois seco à 60 °C.

Figura 10. Procedimento de formação do complexo OTC-ICPTES



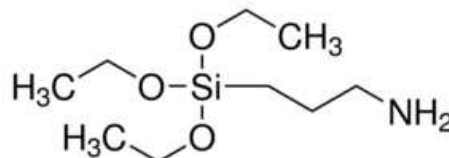
Fonte: o autor

Para remover a molécula de OTC covalentemente ligada à matriz polimérica, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP-OTC}$ foi adicionado a uma solução mista de DMSO e H_2O na proporção de 5 para 1 (v/v) aquecida à $160\text{ }^\circ\text{C}$ durante 8,0 h. O produto obtido foi lavado com etanol e água ultrapura por três vezes e seco em estufa à $60\text{ }^\circ\text{C}$.

4.3.4 Síntese do polímero não impresso ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$)

Para a síntese do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ utilizou-se o óxido de ferro com sílica sintetizado conforme descrito nos itens 4.3.1 e 4.3.2. Seguiu-se os passos indicados para a polimerização, conforme descrito no item 4.3.4, porém o complexo *template* e monômero funcional (OTC-ICPTES) foi substituído pelo (3-aminopropil) trietoxissilano (APTES) (Figura 11), a fim de obter no $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ grupos funcionais iguais aos do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$.

Figura 11. Estrutura do (3-aminopropil) trietoxissilano



Fonte: o autor

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS SINTETIZADOS

As medidas de espectroscopia vibracional no infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR) foram realizadas em espectrofotômetro infravermelho módulo ATR (Reflexão Total Atenuada) acoplado, FTIR Bruker® Vertex 70, acessório de refletância Platinum ATR, onde foram realizadas varreduras de 16 scans e resolução de 4 cm^{-1} , no intervalo de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} . A análise foi realizada no Laboratório de Química Prebiótica (LQP) da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

As análises de fisiossorção de N_2 foram realizadas empregando um analisador Quantachrome® Nova 1200, por meio da sorção de nitrogênio, sendo os dados de área específica calculados a partir do modelo de BET (Brunauer, Emmett, Teller), e o volume e tamanho de poros determinados pelo modelo de BJH (Barrett, Joyner, Halenda). Para isto, 150 mg dos materiais foram aquecidos a $120\text{ }^\circ\text{C}$, sob vácuo, por 4 horas. O equipamento multiusuário é de responsabilidade do programa de Pós-graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina.

As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando o analisador termogravimétrico Q600 (TA, Instrumento 122, EUA), aquecendo 10,0 mg do material numa faixa de 30 a $900\text{ }^\circ\text{C}$, com taxa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de nitrogênio. A análise foi realizada na Universidade Federal de Alfenas, em Minas Gerais (UNIFAL-MG).

As medidas de magnetização foram realizadas em um magnetômetro Microsense, modelo EV9, com varrição de campo magnético entre -20 e 20 kOe . O equipamento encontra-se sob responsabilidade da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

As medidas de difratometria de raios-X em pó foram realizadas em um difratômetro X'Pert PRO da PANalytical com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,540\text{ \AA}$) em geometria Bragg-Brentano de 5 a 120° (2θ). O refinamento de Rietveld (software PANalytical X'Pert HighScore Plus versão 2.2d) foi usado para quantificar as fases cristalinas e os parâmetros estruturais (parâmetros de rede, tamanho do cristalito). Pseudo Voigt foi usado como uma função de forma de pico. Os cartões de informação cristalográfica usados para o refinamento de Rietveld foram 26.410-ICSD para Fe_3O_4 (*Cubic Fd-3 m*) e 1.010.921-ICSD para SiO_2 (*Cubic P213*). O silício policristalino foi definido como referência para o padrão instrumental utilizado no cálculo do tamanho do cristalito e da microdeformação. O tamanho do cristalito (D) e

a microdeformação (ε) foram calculados de acordo com as Equações 1 e 2. Nestas equações, W e U são os parâmetros de Cagliotti da função FWHM descrita na Equação 3. A largura e a forma de um pico de difração são uma convolução do alargamento instrumental e do alargamento resultante da amostra. A contribuição da amostra decorre do alargamento da micro-tensão e do tamanho do cristalito. Ambos os efeitos variam em função de 2θ , mas de maneiras diferentes, isso permite discriminá-los.

$$D = \left(\frac{180}{\pi}\right) \frac{\lambda}{(W - W_{std})^{\frac{1}{2}}} \quad \text{Equação 1}$$

$$\varepsilon = \frac{[(U - U_{std}) - (W - W_{std})]^{\frac{1}{2}}}{4.4} \quad \text{Equação 2}$$

$$FWHM = (U \operatorname{tg}^2 \theta + V \operatorname{tg} \theta + W)^{\frac{1}{2}} \quad \text{Equação 3}$$

A caracterização cristalográfica foi realizada no equipamento de responsabilidade do Laboratório de Análises por Técnicas de Raios-X (LARX), da Universidade Estadual de Londrina.

As análises de microscopia eletrônica de transmissão foram realizadas utilizando um microscópio JEOL® JEM-1400 com voltagem de aceleração de 120 kV e corrente de 65 μA . As amostras foram previamente preparadas por dispersão em etanol ($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$) sob sonicação por 30 min. E posteriormente, a suspensão obtida foi gotejada em grades de cobre e secas em dessecador. O equipamento encontra-se sobre responsabilidade da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada em um equipamento marca Shimadzu, modelo SS-550, com uma tensão de 15 kV e a resolução nominal de 1.5 nm. O equipamento encontra-se sobre responsabilidade da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

4.5 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MAGNÉTICA DISPERSIVA

4.5.1 Influência do solvente na adsorção da OTC

As extrações em fase sólida magnética dispersiva foram realizadas em triplicata com 10,0 mg do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, em 5,0 mL de uma solução de OTC $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ preparada conforme o solvente em estudo: metanol (MeOH), acetonitrila (ACN) e água

(H₂O). A escolha dos solventes foi realizada uma vez que, tanto metanol como acetonitrila, podem ser utilizados em procedimentos de extração de OTC de matrizes alimentícias como etapa preliminar de preparo de amostras.

A solução e o Fe₃O₄/SiO₂/MIP foram acondicionados em tubos de ensaio de vidro com tampa e levados para agitação em vórtex por 3,0 min. Decorrido o tempo, o eluato foi separado da fase sólida com a aplicação de um campo magnético externo e filtrado em seringa com de filtro de membrana de Nylon® 0,45 µm. Para os testes com os solventes metanol e acetonitrila uma alíquota de 1,0 mL foi coletada e levada para evaporação do solvente sob fluxo de N₂. Após, o analito foi retomado em 1,0 mL de fase móvel (acetonitrila e ácido oxálico 0,01 mol L⁻¹ na proporção de 22,5/77,5 (v/v)), e analisado por HPLC-DAD. O mesmo procedimento foi realizado com os materiais Fe₃O₄/SiO₂ e Fe₃O₄/SiO₂/NIP.

4.5.2 Influência do pH na adsorção da OTC

A influência do pH na adsorção da OTC foi realizada em triplicata com 10,0 mg do Fe₃O₄/SiO₂/MIP em 5,0 mL de solução de OTC 2,0 mg L⁻¹, em diferentes valores de pH (2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0). Após a agitação em vórtex por 3,0 min, o material foi separado do eluato com a aplicação de um campo magnético externo, e o eluato filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon® 0,45 µm e analisado por HPLC-DAD. A porcentagem de adsorção foi determinada segundo a Equação 4.

$$\%Adsorção = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde: C_i e C_f são as concentrações inicial e final de OTC em mg L⁻¹, respectivamente.

4.5.3 Avaliação do efeito de impressão química do Fe₃O₄/SiO₂/MIP para a OTC

O estudo do efeito de impressão química do Fe₃O₄/SiO₂/MIP em relação ao analito de impressão (OTC) foram realizados estudos de adsorção competitiva com soluções binárias contendo o analito e uma molécula interferente, sendo avaliadas as moléculas de paracetamol, ciprofloxacina e hidroquinona.

Os experimentos foram realizados em triplicata com 10,0 mg do Fe₃O₄/SiO₂/MIP em 5,0 mL de solução binária na concentração 2,0 mg L⁻¹ de OTC e interferente em água pH 4,0 e metanol. Após agitação em vórtex por 3,0 min, o material

foi separado com a aplicação de um campo magnético externo e o eluato filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon® 0,45 µm e analisado por HPLC-DAD. Para metanol, o eluato foi evaporado sob fluxo de N₂ e retomado em 1,0 mL de fase móvel (acetonitrila e ácido oxálico 0,01 mol L⁻¹ na proporção de 22,5/77,5 (v/v)). O mesmo procedimento foi realizado para o Fe₃O₄/SiO₂/NIP.

Com os resultados obtidos, foram determinados os parâmetros coeficiente de distribuição (K_d), coeficiente de seletividade (k) e coeficiente de seletividade relativo (k'). O coeficiente de distribuição do analito e interferente é calculado a partir da Equação 5.

$$K_d = \left[\frac{(C_i - C_f)}{C_f} \right] \times \frac{V}{m} \quad \text{Equação 5}$$

Em que C_i e C_f (mg L⁻¹) representam a concentração inicial e final; V (mL) o volume da solução; m (g) a massa do Fe₃O₄/SiO₂/MIP. Os valores de K_d fornecem o grau de retenção do analito e do interferente no Fe₃O₄/SiO₂/MIP e Fe₃O₄/SiO₂/NIP. Com os valores de K_d é possível estimar o coeficiente de seletividade (k), definido como a relação entre o coeficiente de distribuição para o analito e o coeficiente de distribuição para os interferentes (Equação 6).

$$k = \frac{K_d(\text{analito})}{K_d(\text{interferente})} \quad \text{Equação 6}$$

Para fazer a comparação dos valores de k entre o Fe₃O₄/SiO₂/MIP e o Fe₃O₄/SiO₂/NIP, ou seja, o coeficiente de seletividade relativo (k'), a Equação 7 é empregada.

$$k' = \frac{K_{MIP}}{K_{NIP}} \quad \text{Equação 7}$$

4.5.4 Cinética de adsorção

Para o estudo de cinética de adsorção, em triplicatas, 10,0 mg de Fe₃O₄/SiO₂/MIP em 5,0 mL de solução de OTC 2,0 mg L⁻¹, em água (pH 4,0) e metanol, foram agitados em vórtex por diferentes tempos (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 120, 140, 160 e 180 segundos). Após a agitação, o material foi separado e o eluato filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon® 0,45 µm e analisado por HPLC-DAD. Para os experimentos em metanol, o solvente foi evaporado sob fluxo de N₂ e retomado em fase móvel (acetonitrila e ácido oxálico 0,01 mol L⁻¹ na proporção

de 22,5/77,5 (v/v)). O mesmo procedimento foi realizado para o Fe₃O₄/SiO₂/NIP. A quantidade de OTC adsorvida (Q_t , mg g⁻¹) pelo Fe₃O₄/SiO₂/MIP e Fe₃O₄/SiO₂/NIP foi determinada pela Equação 8.

$$Q_t = \frac{(C_i - C_f)}{m} \times V \quad \text{Equação 8}$$

Onde: Q_t é a quantidade de analito (mg g⁻¹) adsorvida em diferentes tempos de agitação, C_i e C_f representam as concentrações iniciais e finais da solução de OTC (mg L⁻¹) respectivamente, m é a massa do adsorvente em (g) e V o volume da solução (L). Modelos não lineares de pseudo-primeira, pseudo-segunda ordem e Elovich, e o modelo linear de difusão intrapartícula foram aplicados aos dados cinéticos (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; CLAUSEN, PIRES e TARLEY, 2014; PLAZINSKI, RUDZINSKI e PLAZINSKA, 2009).

O modelo não-linear de pseudo-primeira ordem (PPO), pressupõe que a taxa de adsorção é proporcional ao número de sítios disponíveis no material adsorvente e estabelece que o adsorvato liga-se a um único sítio ativo na superfície. Nos momentos iniciais do processo de adsorção, a quantidade de sítios ativos responsáveis pela adsorção é maior que no tempo de equilíbrio, por este motivo o modelo de PPO se ajusta melhor nos tempos iniciais do processo adsorativo (SARMA *et al.*, 2019; MOUSSOUT *et al.*, 2018; OLIVEIRA, SEGATELLI e TARLEY, 2016; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; PLAZINSKI, RUDZINSKI e PLAZINSKA, 2009). O modelo de PPO é representado pela Equação 9 na sua forma não linearizada, em que Q_e (mg g⁻¹) e Q_t (mg g⁻¹) são a quantidade de adsorvato adsorvidas por grama de adsorvente no equilíbrio e no tempo t , respectivamente, e K_1 é a constante da taxa de adsorção de pseudo-primeira ordem (min⁻¹).

$$Q_t = Q_e (1 - e^{-k_1 t}) \quad \text{Equação 9}$$

O modelo cinético não-linear de pseudo-segunda ordem (PSO) assume a existência de diferentes sítios ativos e de energias de ligação heterogêneas no material adsorvente. O modelo de PSO define que a velocidade de ocupação dos sítios de adsorção é proporcional ao quadrado de sítios ativos, além de admitir que os sítios ativos possuem diferentes energias de adsorção (SARMA *et al.*, 2019; MOUSSOUT *et al.*, 2018; OLIVEIRA, SEGATELLI e TARLEY, 2016; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015). O modelo de PSO é descrito pela equação não linearizada (Equação 10).

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

Na qual os parâmetros K_2 , Q_e e Q_t são a constante de velocidade ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$) de adsorção da reação de PSO, a quantidade de adsorvato adsorvido no equilíbrio (mg g^{-1}) e a quantidade adsorvido em cada tempo t (mg g^{-1}), respectivamente, e t (min) é o tempo de adsorção.

O modelo cinético de Elovich considera que a superfície do material é energeticamente heterogênea, sendo complementar ao modelo de PSO. Este modelo descreve a cinética de adsorção em duas fases, em que a etapa rápida está relacionada com a quantidade de sítios ativos livres, pois nos primeiros tempos de contato a adsorção ocorre rapidamente na camada externa do adsorvente, enquanto a etapa lenta refere-se ao processo de difusão do analito para o interior e exterior dos poros do adsorvente (SARMA *et al.*, 2019; MOUSSOUT *et al.*, 2018; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; MENDONÇA *et al.*, 2020). O modelo de Elovich é descrito pela Equação 11. Onde, Q_t é a quantidade adsorvida (mg g^{-1}) no tempo t (min), β é a constante relacionada com a extensão da superfície de cobertura e a energia de ativação (g mg^{-1}), e α caracteriza a velocidade de adsorção inicial ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$).

$$Q_t = \frac{1}{\beta} \times \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \times \ln t \quad \text{Equação 11}$$

O modelo de difusão intrapartícula, mostra a dependência da adsorção em função da raiz quadrada do tempo, em que Q_t é a quantidade de soluto na superfície do adsorvente no tempo t , K_{id} refere-se à constante de velocidade da difusão intrapartícula ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{1/2}$), t ao tempo (min), enquanto C refere-se à constante relacionada à espessura da camada limite (mg g^{-1}) (MENDONÇA *et al.*, 2020; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; PLAZINSKI, RUDZINSKI e PLAZINSKA, 2009). Este modelo é descrito pela Equação 12.

$$Q_t = K_{id} \times t^{1/2} + C \quad \text{Equação 12}$$

Para o modelo de difusão intrapartícula é possível obter três inclinações de reta, indicando que ocorreram três etapas no transporte de massa. Na primeira etapa a difusão do analito da solução para a superfície externa do material adsorvente. A segunda etapa de inclinação é denominada de difusão intrapartícula, em que ocorre a adsorção gradual do analito no interior do material. A terceira etapa de inclinação indica a etapa na qual o equilíbrio de adsorção é atingido. O intercepto da primeira

etapa é representado pela constante de difusão intrapartícula (C), a qual é proporcional à espessura da camada limite (mg g^{-1}). Quando o valor da constante de difusão apresenta valores positivos e não passa pela origem, significa que o processo de difusão intrapartícula não é o único responsável pelo processo de adsorção, com a adsorção também ocorrendo na superfície. E, quando valor de C é negativo significa que não há adsorção na superfície, apenas nos poros do material (SARMA *et al.*, 2019; MOUSSOUT *et al.*, 2018; OLIVEIRA, SEGATELLI e TARLEY, 2016; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; CLAUSEN, PIRES e TARLEY, 2014).

4.5.5 Isotermas de adsorção

Para a construção das isotermas de adsorção, foram agitados em triplicatas 10,0 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em 5,0 mL de solução de OTC em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 10,0; 15,0; 50,0; 100,0; 200,0; 500,0 e 700,0 mg L^{-1}) em água (pH 4,0) e metanol. Após a agitação em vórtex, o material foi separado com o auxílio de um campo externo magnético e o eluato filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon® 0,45 μm e analisado por HPLC-DAD. Sendo que para metanol, o solvente foi evaporado sob fluxo de N_2 e retomado em 1,0 mL de fase móvel (acetonitrila e ácido oxálico 0,01 mol L^{-1} na proporção de 22,5/77,5 (v/v)). O mesmo procedimento foi realizado para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$. Os dados foram ajustados aos modelos não-lineares de Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich para um e dois sítios de interação (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; BERGAMANN e MACHADO, 2015).

A quantidade de OTC adsorvida em cada material foi calculada de acordo com a Equação 13. Na qual, Q_t é a quantidade de analito adsorvido por grama de adsorvente (mg g^{-1}), C_i é a concentração inicial do analito (mg L^{-1}) e C_f é a concentração do analito no sobrenadante (mg L^{-1}) após a agitação, m é a massa do adsorvente (g) e V é o volume da solução (L) utilizado (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; CLAUSEN, PIRES e TARLEY, 2014).

$$Q_e = \frac{(C_i - C_f) \times V}{m} \quad \text{Equação 13}$$

O modelo de Langmuir é um dos mais utilizados para representar processos adsorptivos, pois pressupõe que a adsorção máxima ocorre em monocamada com saturação da superfície do adsorvente. Este modelo assume a existência de um

número fixo e energeticamente equivalentes de sítios específicos de adsorção e, em cada um destes sítios apenas uma molécula é adsorvida, não havendo interação entre as moléculas adsorvidas (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; BERGAMANN e MACHADO, 2015; FOO e HAMEED, 2010). A equação do modelo de Langmuir é apresentada na Equação 14.

$$Q_e = \frac{Q_{max} \times K_L \times C_{eq}}{1 + K_L \times C_{eq}} \quad \text{Equação 14}$$

Na qual, Q_e (mg g^{-1}) é a quantidade de analito adsorvida por grama de adsorvente; C_{eq} (mg L^{-1}) a concentração no equilíbrio na fase sólida e líquida; K_L (mg L^{-1}) a constante de adsorção de Langmuir, que indica a afinidade do adsorvente pelo adsorvato na monocamada e Q_{max} (mg g^{-1}) a capacidade máxima de adsorção ou número de sítios disponíveis na monocamada do adsorvente (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; BERGAMANN e MACHADO, 2015; CLAUSEN, PIRES e TARLEY, 2014; FOO e HAMEED, 2010).

O modelo de isoterma de Freundlich é um modelo empírico que prevê o processo de adsorção ocorrendo em multicamadas e em sítios de ligação com energias diferentes. O modelo sugere que a superfície do adsorvato é energeticamente heterogênea e que a adsorção ocorre em multicamadas. Além disso, assume que a concentração do adsorvato na superfície do adsorvente aumenta com o aumento da concentração do adsorvato e permite interações entre as moléculas adsorvidas (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; FOO e HAMEED, 2010). A Equação 15 refere-se a forma não linearizada.

$$Q_e = K_F \times C_e^{1/n} \quad \text{Equação 15}$$

Onde Q_e é a capacidade de adsorção no equilíbrio (mg g^{-1}), K_F é a constante de Freundlich ($\text{mg g}^{-1} \text{L mg}^{-1}$), C_e é a concentração no tempo de equilíbrio, dada em mg L^{-1} e n é o parâmetro empírico relacionado à heterogeneidade da superfície do adsorvente e com a intensidade de adsorção. A magnitude do expoente $1/n$ fornece indícios se a isoterma é favorável ou não. Assim, valores na faixa de $1 < n < 10$ indicam adsorção favorável (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; FOO e HAMEED, 2010).

A combinação dos dois modelos descritos anteriormente originou o modelo de Langmuir-Freundlich para um sítio e dois sítios de adsorção. O modelo híbrido de Langmuir-Freundlich preconiza que a superfície do material adsorvente pode apresentar diferentes sítios de ligação. No modelo híbrido de Langmuir-Freundlich

para um sítio, os sítios de ligação são energeticamente homogêneos, à medida que no modelo híbrido para dois sítios, estes são energeticamente heterogêneos (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; FOO e HAMEED, 2010; ARASTEH *et al.*, 2010).

O modelo híbrido de Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção pressupõe que em baixas concentrações, a adsorção ocorre em multicamadas respeitando o modelo de Freundlich, enquanto em maiores concentrações a adsorção ocorre em monocamadas, prevendo saturação dos sítios de ligação, conforme descrito pelo modelo de Langmuir (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017; LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; ARASTEH *et al.*, 2010). A Equação 16 refere-se ao modelo de Langmuir-Freundlich para um sítio de ligação.

$$Q_e = \frac{b \times (K \times C_e)^n}{1 + (K \times C_e)^n} \quad \text{Equação 16}$$

Em que Q_e (mg g^{-1}) é a quantidade de analito sorvida por grama de sorvente; C_{eq} (mg L^{-1}) a concentração de analito no equilíbrio; K (mg L^{-1}) a constante de adsorção de Langmuir-Freundlich, b (mg g^{-1}) é a capacidade máxima de adsorção em cada sítio e n é o parâmetro de heterogeneidade (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017);.

O modelo Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção assume a existência de sítios de ligação com diferentes afinidades com o adsorvato, sendo que, em baixas concentrações, o adsorvato interage com o sítio de maior afinidade e, em altas concentrações, interage com os sítios de menor afinidade (LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; ARASTEH *et al.*, 2010). A Equação 17 refere-se ao modelo de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção.

$$Q_e = \frac{b_1 \times (K_1 \times C_e)^{n_1}}{1 + (K_1 \times C_e)^{n_1}} + \frac{b_2 \times (K_2 \times C_e)^{n_2}}{1 + (K_2 \times C_e)^{n_2}} \quad \text{Equação 17}$$

Onde Q_e é a quantidade de adsorvato adsorvido no equilíbrio (mg g^{-1}), b_1 e b_2 representa a capacidade máxima de adsorção em cada sítio (mg g^{-1}), C_e indica a concentração de adsorvato na fase líquida (mg L^{-1}), K_1 e K_2 é a constante do modelo de Langmuir-Freundlich e n é o parâmetro de heterogeneidade (PRETE e TARLEY, 2019; CASARIN *et al.*, 2017).

Diferentes modelos de isotermas podem ajustar, em maior ou menor extensão, com os dados experimentais. Parâmetros que estimam a concordância entre os valores experimentais e os preditos podem ser empregados para avaliar a qualidade

dos ajustes. Geralmente são empregados os parâmetros de coeficiente de determinação (R^2) e *Root Square Mean Error* (RSME). Quanto melhor a adequação do modelo aos dados experimentais, ou seja, quanto mais próximo os dados experimentais estiverem dos valores previsto pelo modelo, melhor será o ajuste. Assim, quanto mais baixo o valor de RSME e mais próximo de um o valor de R^2 , mais os dados experimentais se ajustam ao valor obtido pelo modelo (LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015; FOO e HAMEED, 2010; ARASTEH *et al.*, 2010).

4.6 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS RELATIVOS AO MÉTODO MDSPE

4.6.1 Influência da massa e do tempo de vórtex na adsorção da OTC pelo do $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$

A influência da massa do $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$ (10,0; 20,0 e 25,0 mg) foi avaliada na porcentagem de adsorção da OTC realizando agitação em vórtex por 180 segundos da mistura com 40,0 mL de uma solução de $100 \mu g L^{-1}$ de OTC em pH 4,0. Após a separação das fases líquida e sólida com a aplicação de um campo magnético externo, 1,0 mL do eluato foi filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon[®] 0,45 μm e analisado por HPLC-DAD. Os experimentos foram realizados em triplicatas.

A influência do tempo de vórtex na porcentagem de adsorção da OTC foi estudada com os tempos de 40, 50, 60, 120 e 180 segundos, sob as mesmas condições do estudo anterior, no qual após a separação de fases 1,0 mL do eluato filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon[®] 0,45 μm e analisado por HPLC-DAD. Os experimentos foram realizados em triplicatas. As porcentagens de adsorção de OTC foram determinadas pela Equação 4.

4.6.2 Influência na natureza e do volume do solvente de eluição

Para o estudo da influência do solvente de eluição, foram agitados em triplicatas, 10,0 mg de $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$ em 40,0 mL de solução de OTC $100 \mu g L^{-1}$ em água (pH 4,0). Após a agitação em vórtex, o material foi separado do eluato com a aplicação de um campo magnético externo. Para a eluição, foram testados os solventes: fase móvel (acetonitrila e ácido oxálico $0,01 mol L^{-1}$ na proporção de 22,5/77,5 (v/v)), 1% de ácido acético em metanol, 1% de ácido acético em água e

ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Para cada solvente, utilizou-se 2,0 mL e tempo de agitação de 60 segundos em vórtex. As fases foram separadas com o auxílio de um campo magnético externo, e o eluato foi filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon® 0,45 μm e analisado por HPLC-DAD. Sendo que para 1% de ácido acético em metanol e 1% de ácido acético em água os solventes foram evaporados sob fluxo de N_2 e retomados em fase móvel para posterior análise por HPLC-DAD.

Após, realizou-se o estudo do volume de acetonitrila e ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ na proporção de 22,5/77,5 (v/v) para a eluição da OTC, sendo testados os volumes de 200, 300, 400 e 500 μL . Para o estudo, foram agitados em triplicatas, 10,0 mg do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em 40,0 mL de uma solução de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de OTC em água (pH 4,0). Após a agitação do material em vórtex por 60 segundos, o adsorvente foi separado com a aplicação de um campo magnético externo, e foi adicionado ao $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ a quantidade em estudo do solvente de eluição, sendo este submetido a uma agitação em vórtex por 60 segundos, separado por campo magnético externo, e filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon® 0,45 μm para análise por HPLC-DAD.

4.6.3 Determinação dos parâmetros analíticos

O desempenho do método proposto para a pré-concentração de OTC foi avaliado a partir do cálculo dos parâmetros analíticos, tais como linearidade da curva analítica, fator de pré-concentração (FPC), limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão, utilizando o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ sob as condições otimizadas.

Para isso, com as melhores condições de adsorção e eluição, duas curvas analíticas foram construídas em triplicatas, sendo uma submetendo soluções padrões de OTC às etapas de adsorção e eluição para posterior injeção por HPLC-DAD, e a outra com a injeção direta das soluções padrões de OTC no HPLC-DAD.

O limite de detecção (LD, do inglês *Limit of Detection*) é a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, enquanto o limite de quantificação (LQ, do inglês, *Limit of Quantification*) é a menor concentração do analito que pode ser quantificada pelo método proposto com precisão e exatidão aceitáveis nas condições experimentais, sendo expresso em unidade de concentração. Ambos foram calculados de acordo com a IUPAC (Equações 18 e 19, respectivamente) (LONG E WINEFORDNER, 1983). Em que *std*

é o desvio padrão da leitura de dez brancos e m o coeficiente angular da curva analítica. O fator de pré-concentração (FPC) foi determinado pela razão entre o coeficiente angular da curva com e sem a etapa de pré-concentração.

$$LD = \frac{3std}{m} \quad \text{Equação 18}$$

$$LQ = \frac{10std}{m} \quad \text{Equação 19}$$

A precisão intradia e interdia do método, foi determinada calculando o desvio relativo (DPR) para réplicas autênticas ($n= 10$) de soluções de OTC nas concentrações de 20,0 e 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, submetidas a pré-concentração.

4.7 APLICAÇÃO DO MÉTODO MDSPE EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL E LEITE

Amostras de água superficial do Lago do Iguapó situado na cidade de Londrina, região norte do Paraná – BR (coordenadas: 23°29'53"S51°14'71"W), foram coletadas e armazenadas em frascos âmbar. Os frascos foram lavados com água e detergente e em seguida foram enxaguados com água ultrapura e secos a temperatura ambiente. Na sequência permaneceram em banho de ácido nítrico 10% por 24 horas. Posteriormente foram enxaguados com água ultrapura e secos, no qual 15,0 mL de acetona foram passados no interior dos frascos e novamente secos para utilização. Durante a coleta, os frascos foram ambientados por quatro vezes com as amostras. Após a coleta, as amostras foram acidificadas com H_2SO_4 (pH = 2,0) no ponto de coleta, transportadas para o laboratório e conservadas sob refrigeração em temperatura de 5 °C. Posteriormente, foram filtradas em membranas de celulose 0,45 μm e conservadas sob refrigeração na temperatura de 5 °C.

Para análise de resíduos de OTC nas amostras de água superficial, em triplicatas, 40,0 mL de amostra com pH ajustado para 4,0, foram submetidos ao procedimento MDSPE com 10,0 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, agitando em vórtex por 60 segundos. Fase sólida e fase líquida foram separadas com a aproximação do campo externo magnético e a fase sólida foi submetida ao procedimento de eluição, utilizando 400 μL de ácido oxálico 0,01 mol L^{-1} /acetonitrila (77,5/22,5 v/v) agitando por 60 segundos em vórtex, seguido de filtragem em seringa com filtro de membrana de Nylon® 0,45 μm e determinação por HPLC-DAD. Com o intuito de averiguar a exatidão do método proposto, testes de adição e recuperação de padrão foram empregados. Para tal, as amostras de água superficial foram dopadas com quantidades conhecidas

de OTC (nos níveis de 12,0 e 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) e submetidas aos procedimentos de MDSPE.

O método MDSPE também foi aplicado em amostras de leite bovino integral e desnatado UHT (ultra-high temperature) adquirida em supermercado local, na cidade de Londrina – PR. Em triplicatas, as amostras passaram por um procedimento inicial, no qual 5,0 mL de amostra de leite foram adicionadas a tubos Falcons juntamente com 10,0 mL de tampão McIlvaive 0,1 mol L^{-1} pH 4,0. As amostras foram levadas ao banho ultrassônico por 15 minutos, e posteriormente submetidas a centrifugação por 10 minutos a 3000 rpm, e após decorrido o tempo os sobrenadantes foram coletados. O procedimento de extração com adição de 10,0 mL de tampão McIlvaive 0,1 mol L^{-1} pH 4,0, foi efetuado por quatro vezes seguidas a fim de obter 40,0 mL de extrato das amostras para o procedimento de extração MDSPE.

O tampão McIlvaive 0,1 mol L^{-1} pH 4,0, foi utilizado para a precipitação das proteínas do leite conforme descrito na literatura (PRADO e MACHINSKI JUNIOR, 2011). A solução tampão é composta por 0,07 mol L^{-1} ácido cítrico monohidratado, 0,1 mol L^{-1} hidrogenofosfato dissódico dihidratado, 0,01 mol L^{-1} e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) diluídos em água e o pH é ajustado para faixa desejada. Como as tetraciclinas são facilmente degradadas em soluções alcalinas, justifica-se ajustar o pH da solução tampão para ácido, sendo o pH 4,0 escolhido devido a maior adsorção da OTC ao $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, conforme avaliado nos estudos de influência de pH.

Após o procedimento de extração, 40,0 mL do extrato da amostra de leite foram coletados e submetidas ao procedimento MDSPE com 10,0 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, agitando em vórtex por 60 segundos. Fase sólida e fase líquida foram separadas com a aproximação do campo externo magnético e a fase sólida foi submetida ao procedimento de eluição, utilizando 400 μL de ácido oxálico 0,01 mol L^{-1} /acetonitrila (77,5/22,5 v/v) agitando por 60 segundos em vórtex, seguido de filtragem em seringa com filtro de membrana de Nylon® 0,45 μm e determinação por HPLC-DAD.

Com o intuito de averiguar a exatidão do método proposto, testes de adição e recuperação de padrão foram empregados. Para tal, os 5,0 mL das amostras leite foram dopados com quantidades conhecidas de OTC (amostra B nos níveis 20,0 e 40,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e amostra C nos níveis 25,0 e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) e submetidas aos procedimentos de precipitação das proteínas, extração e eluição da OTC do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$. Estas

concentrações foram escolhidas com base nos LMR permitidos no Brasil pela ANVISA estabelece um limite de $100 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.8 AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE E DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS FRENTE AOS ANÁLOGOS ESTRUTURAIS DAS TCs

4.8.1 Avaliação da seletividade

O estudo da seletividade do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em relação a OTC e os análogos estruturais das TCs foram realizados estudos de adsorção competitiva com soluções binárias contendo o analito e uma molécula interferente, sendo avaliadas as moléculas de TC, CTC e DC.

Os experimentos foram realizados em triplicata com $10,0 \text{ mg}$ do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em $40,0 \text{ mL}$ de solução binária na concentração $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de OTC e interferente em água pH 4,0. Após agitação em vórtex por 60 segundos, o material foi separado com a aplicação de um campo magnético externo e o eluato filtrado em seringa com filtro de membrana de Nylon[®] $0,45 \mu\text{m}$ e analisado por HPLC-DAD. O mesmo procedimento foi realizado para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$. Com os resultados obtidos, foram determinados os parâmetros coeficiente de distribuição (K_d), coeficiente de seletividade (k) e coeficiente de seletividade relativo (k'), conforme Equações 5, 6 e 7.

4.8.2 Parâmetros analíticos para os análogos estruturais

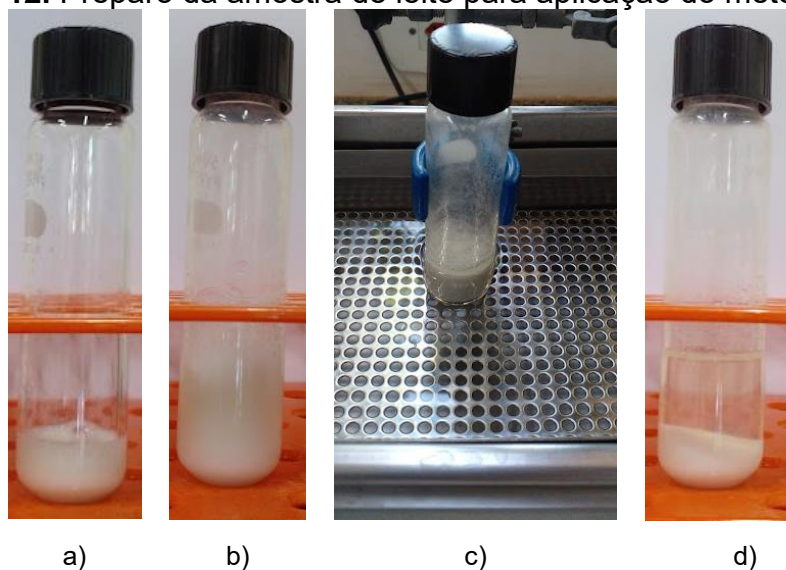
O desempenho do método proposto para a pré-concentração dos análogos estruturais das TCs foi avaliado a partir do cálculo dos parâmetros analíticos utilizando o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ sob as condições otimizadas. Para isso, com as melhores condições de adsorção e eluição, duas curvas analíticas foram construídas em triplicatas, sendo uma submetendo soluções padrões de TCs às etapas de adsorção e eluição para posterior injeção por HPLC-DAD, e a outra com a injeção direta das soluções padrões de TCs no HPLC-DAD.

Os LDs e LQs foram calculados de acordo com a IUPAC (Equações 18 e 19, respectivamente). A precisão intradia e interdia do método, foi determinado calculando o desvio relativo (DPR) para réplicas autênticas ($n= 10$) de soluções de TCs nas concentrações de $20,0$ e $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ submetidas a pré-concentração.

4.8.3 Aplicação do método MDSPE paras as TCs em amostras de leite

O método MDSPE foi aplicado em amostras de duas marcas distintas (A e B) de leite bovino integral, semi-desnatado e desnatado UHT (ultra-high temperature) adquirida em supermercado local, na cidade de Londrina – PR. Em triplicatas, as amostras passaram pelo procedimento descrito no item 4.7 e apresentado na Figura 12 em que, 5,0 mL de amostras de leite foram adicionadas a tubos Falcons (a) juntamente com 10,0 mL de tampão McIlvaive $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,0 (b). As amostras foram levadas ao banho ultrassônico por 15 minutos (c), e posteriormente submetidas a centrifugação por 10 minutos a 3000 rpm, e após decorrido o tempo os sobrenadantes foram coletados (d). O procedimento de extração com adição de 10,0 mL de tampão McIlvaive $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4,0, foi efetuado por quatro vezes seguidas, a fim de obter 40,0 mL de extrato das amostras para o procedimento de extração MDSPE.

Figura 12. Preparo da amostra de leite para aplicação do método MDSPE



Fonte: o autor

Com o intuito de averiguar a exatidão do método proposto, testes de adição e recuperação de padrão foram empregados. Para tal, as amostras de leite foram dopadas com quantidades conhecidas de TCs (nos níveis de $25,0$ e $35,0 \mu\text{g L}^{-1}$) e submetidas aos procedimentos de precipitação das proteínas, extração e eluição dos analitos do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS SINTETIZADOS

5.1.1 Espectroscopia vibracional no infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR)

As análises foram realizadas para o *template* OTC e para o monômero funcional ICPTES (3-triethoxisilil propil isocianato), e posteriormente para o produto da reação entre *template* e MF (Figura 7). Os materiais Fe₃O₄, Fe₃O₄/SiO₂, Fe₃O₄/SiO₂/MIP e Fe₃O₄/SiO₂/NIP também foram analisados.

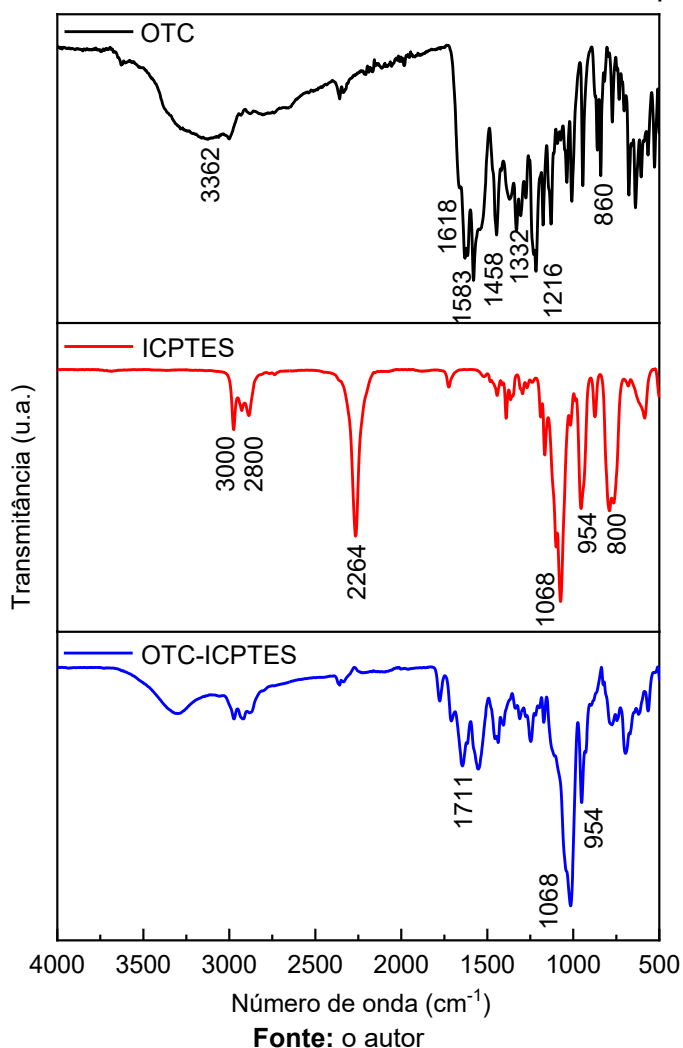
Os espectros de ATR-FTIR do *template*, do monômero funcional e do complexo formado entre a OTC e o ICPTES são apresentados na Figura 13. O espectro da OTC apresenta uma banda característica para estiramento N–H e O–H em 3362 cm⁻¹ (TRIVEDI *et al.*, 2016; COATES, 2000). A região entre 1700 cm⁻¹ e 1500 cm⁻¹ apresenta picos característicos do grupo funcional tricarbonilamida (GU e KARTHIKEYAN, 2005; MYERS, TOCHON-DANGUY e BAUD, 1983). A banda em 1673 cm⁻¹ pode ser atribuída a ligação –C=O associado a amida (WU *et al.*, 2016; GU, KARTHIKEYAN, 2005; MYERS; TOCHON-DANGUY; BAUD, 1983). As bandas em 1618 cm⁻¹ e 1583 cm⁻¹ são características de grupos carbonilas presentes nos anéis (WU *et al.*, 2016; GU; KARTHIKEYAN, 2005).

A banda em 1458 cm⁻¹ pode ser atribuída tanto a vibrações de ligação =C–N– (GHADIM *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2011) quanto para ligações –C=C– (TRIVEDI *et al.*, 2016; WU *et al.*, 2016), enquanto a banda em 1332 cm⁻¹ pode ser associada a deformações das ligações C–H (TRIVEDI *et al.*, 2016; COATES, 2000) e a banda em 1216 cm⁻¹ pode ser atribuída ao estiramento da ligação N–H (CHANG *et al.*, 2020; COATES, 2000). As bandas abaixo de 1000 cm⁻¹, como em 860 cm⁻¹, são características de deformações angular para ligações C–H em anel aromático (COATES, 2000).

Para o espectro do monômero funcional ICPTES, a banda em 2264 cm⁻¹ de intensidade forte é correspondente ao grupamento isocianato. As bandas relativamente fortes na faixa de 2800-3000 cm⁻¹ corresponderam à vibração de alongamento das ligações C–H. Bandas correspondentes às vibrações de alongamento assimétrico e simétrico da ligação Si–O–Si aparecem no intervalo de

1200 cm^{-1} a 1000 cm^{-1} e a aproximadamente 800 cm^{-1} , respectivamente. Ainda, a banda correspondente à vibração de alongamento da ligação Si–OH pode ser observada a aproximadamente 954 cm^{-1} (ANDRASIK, 2004; GÜNEY e GÜNEY, 2017).

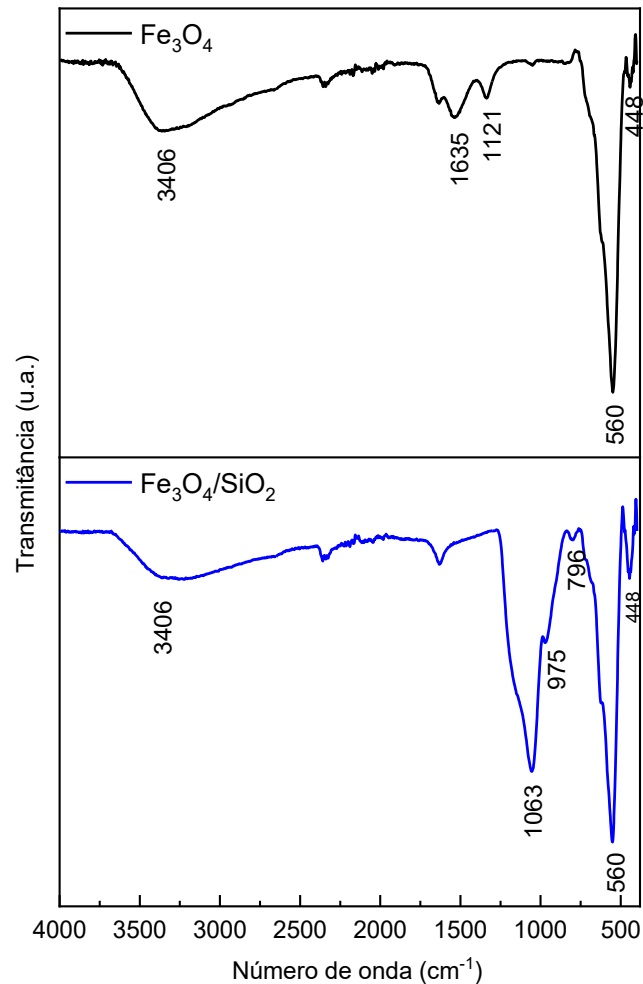
Figura 13. Espectros de ATR - FTIR da OTC, ICPTES e do complexo OTC-ICPTES



Após a formação do complexo OTC-ICPTES, entre 1750 e 1350 cm^{-1} observa-se a presença de bandas ausentes no espectro da OTC e do ICPTES, oriundas da ligação estabelecida entre *template*-MF, sendo a banda em 1711 cm^{-1} referente ao grupo carbonila da ligação de uretano formada pelo complexo. Ainda, pode-se observar o desaparecimento da banda em 2264 cm^{-1} característica do grupo isocianato ($-\text{N}=\text{C}=\text{O}$) após a formação do complexo, uma vez que o complexo OTC-ICPTES estabelece uma ligação de uretano entre *template* e MF (GÜNEY e GÜNEY, 2017).

Para verificar a presença de grupos funcionais característicos dos materiais de partida, realizou-se o ATR-FTIR do Fe_3O_4 e posteriormente, do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, sendo que os espectros dos respectivos materiais são apresentados na Figura 14.

Figura 14. Espectros de ATR-FTIR do Fe_3O_4 e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$



Fonte: o autor

O espectro de infravermelho do Fe_3O_4 e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ apresentaram os principais modos de vibração característico desses materiais. As bandas de absorção na região de 3406 cm^{-1} são referentes ao estiramento vibracional dos grupos OH pertencentes às hidroxilas estruturais e o pico em 1635 cm^{-1} pode ser atribuído a deformação angular das moléculas de água na superfície dos materiais (SANTOS, TARLEY e CORAZZA, 2022; DINIZ e TARLEY, 2015; CUNHA *et al.*, 2012). A banda em 560 cm^{-1} refere-se à vibração de alongamento da ligação Fe–O–Fe, confirmando a estrutura do Fe_3O_4 . Percebe-se que esta banda é preservada no espectro do material $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ (Figura 15), demonstrando que a composição do Fe_3O_4 não

sofre alterações significativas, durante as etapas seguintes de síntese dos materiais (SANTOS, TARLEY e CORAZZA, 2022; OLIVEIRA *et al.*, 2019; KARIMI, RANJBAR e AKBARPOOR, 2016; DINIZ e TARLEY, 2015; WANG *et al.*, 2009).

Depois da incorporação da sílica ao óxido de ferro, aparecem novas bandas referentes as interações entre o silício e o óxido de ferro, como é o caso da banda em 448 cm^{-1} , resultante da deformação da ligação Si–O–Fe (KHOSROSHAHI e GHAZANFARI, 2012). As bandas em 1063 cm^{-1} e 796 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos assimétricos e simétricos das ligações Si–O–Si. E, em 975 cm^{-1} observa-se uma leve formação de um ombro atribuído ao estiramento simétrico Si–OH (SANTOS, TARLEY e CORAZZA, 2022; MENDONÇA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2019; DINIZ e TARLEY, 2015; XIE *et al.*, 2014).

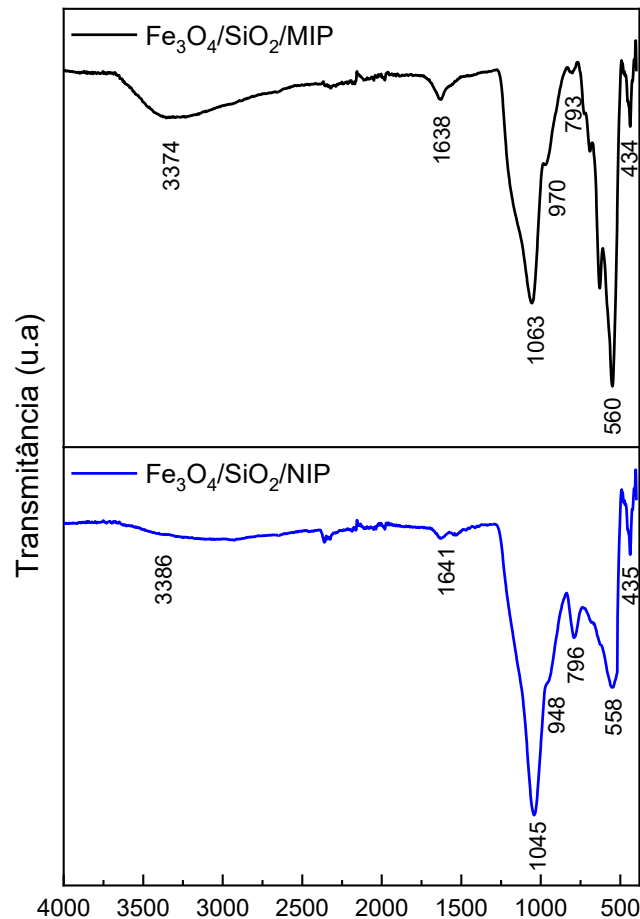
O espectro do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ é apresentado na Figura 15, assim como o espectro do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$. A síntese do polímero molecularmente impresso baseado na adição do complexo OTC-ICPTES e Tetraetoxisilano (TEOS), reagente de reticulação, ao meio reacional resulta na preservação da banda em 1063 cm^{-1} , que é atribuída aos estiramentos assimétricos Si–O–Si. Ainda, observa-se um pequeno ombro em 970 cm^{-1} , atribuído ao estiramento simétrico Si–OH, e uma banda em 434 cm^{-1} , proveniente da deformação da ligação Si–O–Fe (KARIMI, RANJBAR e AKBARPOOR, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2019).

Conforme demonstrado na Figura 7, ocorre a formação do complexo *template*-monômero funcional (OTC-ICPTES), no qual acontece uma ligação de uretano. Para remover as moléculas de OTC ligadas covalentemente ao ICPTES e impressas na rede polimérica, as partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ foram aquecidas à 160°C em uma solução mista de dimetilsulfóxido (DMSO) e água na proporção de 5:1 (v/v) durante 8,0 horas permitindo a clivagem da ligação de uretano e resultando em um grupo amino (NH_2). As bandas características de ligações $-\text{NH}_2$ e $\text{N}-\text{H}$ atribuídas pela literatura aparecem em 3374 cm^{-1} e 1638 cm^{-1} , respectivamente. Porém, estas bandas podem ter sido sobrepostas por bandas de estiramento vibracional dos grupos OH e por bandas de deformação angular das moléculas de água na superfície dos materiais, como apresentado no espectro de infravermelho do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ (Figura 10) (DINIZ e TARLEY, 2015; FAN *et al.*, 2012).

A Figura 15 ainda ilustra o espectro do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$, material sem a impressão química da molécula de OTC, e sintetizado utilizando o APTES como monômero funcional para se obter os mesmos grupos funcionais que o material com

impressão química após a clivagem da ligação entre o ICPTES e a OTC. Assim como nos demais materiais, observa-se no polímero não impresso a presença da banda referente ao óxido de ferro em 558 cm^{-1} , a banda em 435 cm^{-1} originária da deformação da ligação Si–O–Fe, a banda em 796 cm^{-1} atribuída aos estiramentos simétricos das ligações Si–O–Si, a banda em 1045 cm^{-1} referente aos estiramentos assimétricos Si–O–Si e o pequeno ombro em 948 cm^{-1} atribuído ao estiramento simétrico S–OH, oriundos do óxido de ferro recoberto com sílica (MENDONÇA *et al.*, 2019; GÜNEY e GÜNEY, 2017).

Figura 15. Espectro de ATR-FTIR do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$



Fonte: o autor

A síntese do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ utilizado APTES com o intuito de originar os mesmos grupos funcionais do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ após a clivagem do complexo OTC-ICPTES, originaria bandas características de ligações –NH₂ e N–H. Porém, como já discutido no material $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, estas bandas podem ter sido sobrepostas por bandas de estiramento vibracional dos grupos OH e por bandas de deformação

angular das moléculas de água na superfície dos materiais (DINIZ e TARLEY, 2015; FAN *et al.*, 2012).

5.1.2 Fisiossorção de N₂

Os resultados de área superficial, volume de poros e diâmetro de poros estão apresentados na Tabela 2. A IUPAC classifica os materiais de acordo com a porosidade em função do diâmetro médio de poros. Materiais com poros de diâmetros superiores a 50 nm são classificados como macroporosos, com diâmetros entre 2 nm e 50 nm de mesoporosos, e com diâmetros inferiores a 2 nm são classificados como microporosos. Assim, os materiais sintetizados são classificados como mesoporosos por possuírem tamanho entre 2 e 50 nm (THOMMES *et al.*, 2015).

Tabela 2. Área superficial, volume médio de poro e diâmetro médio de poro para o Fe₃O₄, Fe₃O₄/SiO₂, Fe₃O₄/SiO₂/MIP-OTC, Fe₃O₄/SiO₂/MIP e Fe₃O₄/SiO₂/NIP

Material	Área superficial (m ² g ⁻¹)	Volume médio de poro (cm ³ g ⁻¹)	Diâmetro médio de poro (nm)
Fe ₃ O ₄	116,3	0,302	10,4
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂	200,2	0,508	10,1
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP-OTC	211,9	0,507	9,6
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	216,0	0,528	9,8
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	103,6	0,222	8,6

Fonte: o autor

As partículas de Fe₃O₄ apresentam área superficial reduzida comparada aos materiais Fe₃O₄/SiO₂, Fe₃O₄/SiO₂/MIP-OTC e Fe₃O₄/SiO₂/MIP, e um menor volume de poro caracterizando-o como um material de baixa porosidade. Esse resultado se deve ao maior grau de agregação das partículas de Fe₃O₄, ocasionando menor área superficial.

As partículas de Fe₃O₄/SiO₂ apresentam um aumento significativo de área superficial e de volume dos poros devido a modificação da superfície. O mecanismo da reação do processo de modificação da superfície do óxido de ferro pela sílica é muito diverso. A reação ocorre entre um precursor silano (Na₂SiO₃) e o material sólido (Fe₃O₄), envolvendo mais de um mecanismo e possibilitando a ocorrência de vários intermediários diferentes durante a reação. Pressupõem-se que os grupos silanóis, oriundos da hidrólise do Na₂SiO₃, reajam entre si por meio de reações de condensação

e com as ligações de Fe-O, para formar a ligação de Si-O-Fe (apresentada no espectro de ATR-FTIR do material na Figura 13) (ALFAYA e KUBOTA, 2002; SHARAFI *et al.*, 2018). Em decorrência disto, supõem-se que na síntese do material a reação entre o Na_2SiO_3 e o Fe_3O_4 , tenha resultado na formação de estruturas com área superficial e volume médio de poro maiores que do Fe_3O_4 .

A área superficial dos materiais $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP-OTC}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ aumenta ligeiramente em relação ao $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, muito provavelmente devido à formação da cadeia polimérica durante o processo de impressão química. Após a remoção do *template* da rede polimérica ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$), observa-se um pequeno aumento na área superficial ($216,0 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), o que permite inferir que o *template* pode ocupar alguns poros do material (OLIVEIRA; SEGATELLI e TARLEY, 2016).

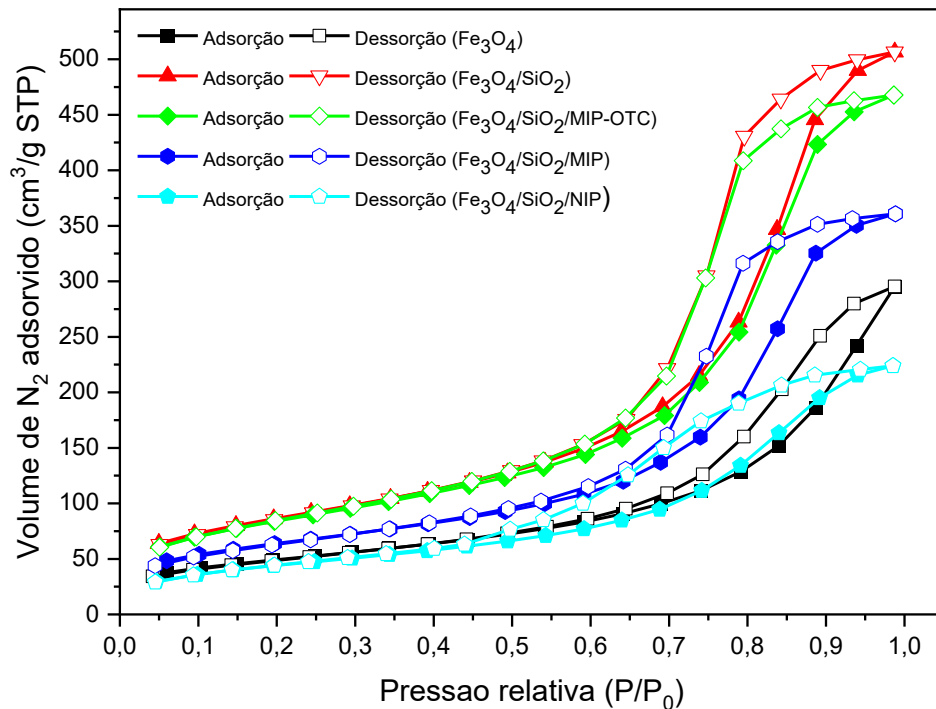
Na síntese do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, forma-se uma rede polimérica catalisada pelo HCl, na qual os átomos de Si oriundo do TEOS e a sua fração etoxi é hidrolisada, para na sequência reagir com os grupos OH da superfície do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, formando a ligação Si-O-Si (apresentada no espectro de ATR-FTIR do material na Figura 14). Depois, esses grupos silanóis ligam-se ao complexo OTC-ICPTES, que através do processo de clivagem química remove a molécula de OTC, que por ser volumosa diminui as reações de hidrólise e condensação, originando a formação de um maior número de ramificações na rede polimérica e de um material com maior área superficial (ALFAYA e KUBOTA, 2002; SHARAFI *et al.*, 2018).

O $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ apresenta área superficial, diâmetro médio e volume médio de poro reduzido comparado aos demais materiais. A diminuição dos parâmetros é decorrente da substituição do produto do complexo OTC-ICPTES pelo APTES. Na reação de polimerização do NIP sobre $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, o grupo etoxi ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$) do APTES é hidrolisado e reage com os grupos OH da superfície do material para formação de uma ligação Si-O-Si com o TEOS, enquanto o grupo amino permanece livre para posterior ligação com a OTC.

Conforme a classificação da IUPAC sobre os perfis das isotermas de fisissorção, as isotermas de adsorção e dessorção, apresentadas na Figura 16, são do tipo IV com de histerese tipo H3, que apresenta dois ramos distintos sendo que, o ramo superior representa a quantidade de gás dessorvida no processo de dessorção, enquanto o ramo inferior mostra a quantidade de gás adsorvida com o aumento da pressão relativa. As isotermas do tipo IV são características de adsorventes mesoporosos, onde o processo de evaporação é diferente do processo de condensação, confirmando o

aspecto já estabelecido pelo diâmetro médio dos poros dos materiais (BEDIN *et al.*, 2017; THOMMES *et al.*, 2015; SING, 1985).

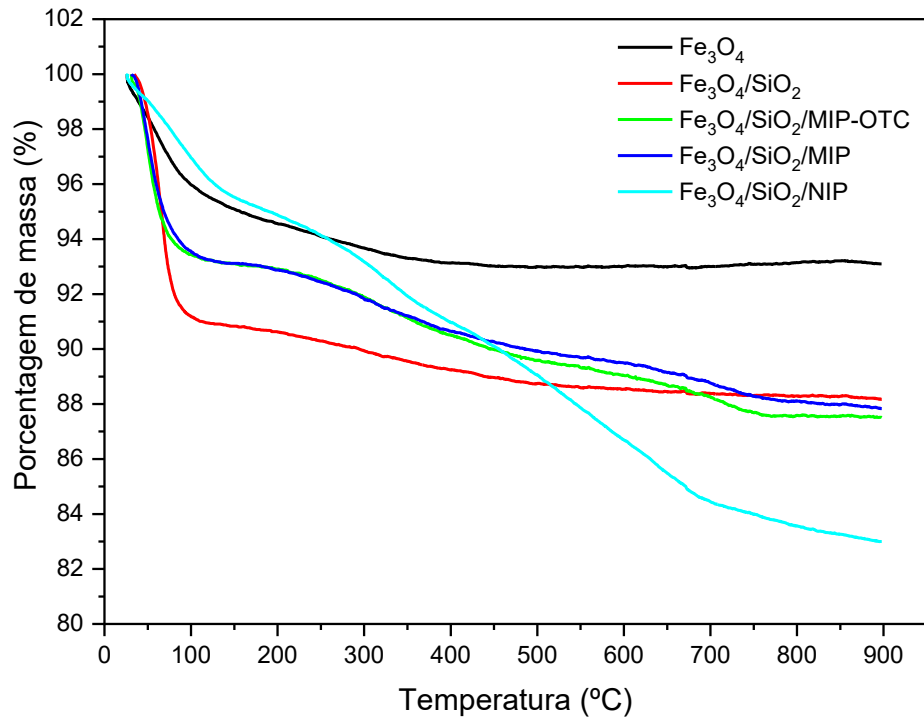
Figura 16. Isotermas de adsorção e dessorção do Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP-OTC}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$



5.1.3 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica mede a variação da massa da amostra em função da temperatura e sua curva resultante fornece informações quanto à estabilidade térmica dos materiais sintetizados e ajudam a compreender o processo de incorporação dos materiais a cada etapa da síntese. Os materiais foram aquecidos de 30 a 900 °C e as curvas termogravimétricas estão reunidas na Figura 17.

Figura 17. Curvas termogravimétricas para o Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP-OTC}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$



Fonte: o autor

Para as partículas de Fe_3O_4 foi observada uma pequena perda de massa de 6,9 %, devido à sua natureza inorgânica. Para as partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ foi observada 11,83 % de perda de massa. As porcentagens de perdas de massa para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP-OTC}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ são muito semelhantes, 12,49 % e 12,17 % respectivamente, e o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ apresentou a maior perda de massa (16,99 %) em relação aos demais materiais. Para todos os materiais, a perda de massa inicial em temperaturas inferiores a 150 °C pode ser atribuída à eliminação de água fisicamente adsorvida na superfície das amostras (XIE *et al.*, 2014).

O material Fe_3O_4 apresentou menor perda de massa quando comparado aos demais materiais, coerente com a sua natureza inorgânica. Após a primeira perda de massa devido a água adsorvida na superfície do material, a segunda perda de massa que ocorre entre 200 e 320 °C, mais especificamente em 270 °C, é atribuída a conversão do Fe_3O_4 - magnetita em $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ – maghemita, e por volta de 320 °C a $\gamma\text{Fe}_3\text{O}_4$ passa a $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, que é a conversão da maghemita em hematita, alterando a estrutura cristalina e as propriedades magnéticas do Fe_3O_4 (ALAMRI *et al.*, 2018). A menor perda de massa do Fe_3O_4 é também atribuída ao fato de que este possui uma

maior resistência térmica, pois possui uma temperatura de fusão acima de 1400 °C (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Para o material $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, a proteção com sílica do óxido de ferro possui estabilidade térmica e as perdas de massa são provenientes da magnetita. A segunda perda de massa entre 200 °C e 320 °C, é referente à conversão de magnetita em maghemita e, em seguida para hematita. A última perda de massa acontece acima de 330 °C e é atribuída à perda dos grupos silanos da superfície da sílica, essa perda não ocorre a uma temperatura específica pois esses grupos se decompõem lentamente na superfície da sílica (FRANQUI *et al.*, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2019).

As curvas termogravimétricas para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP-OTC}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ são muito semelhantes. Entre 200 e 320 °C é atribuída às mudanças de composição do Fe_3O_4 (magnetita-maghemita-hematita). De 320 até 500 °C a perda de massa é referente a decomposição térmica dos grupos funcionais amino e a frações orgânicas ligadas a átomos de silício dos grupos etoxi do monômero funcional ICPTES. Acima de 500 °C, a perda de massa corresponde à desidratação completa das espécies de sílica que depois permanecem estáveis (KHOSROSHAHI e GHAZANFARI, 2012).

O $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ apresenta uma perda de massa superior em comparação aos outros materiais, o que sugere a presença de uma fração orgânica atribuída ao APTES maior no polímero sem impressão química, sendo a decomposição desta a principal responsável pela elevada perda de massa, além das perdas de H_2O , transformações de fase do Fe_3O_4 e desidratação completa da sílica discutidas para os materiais anteriores.

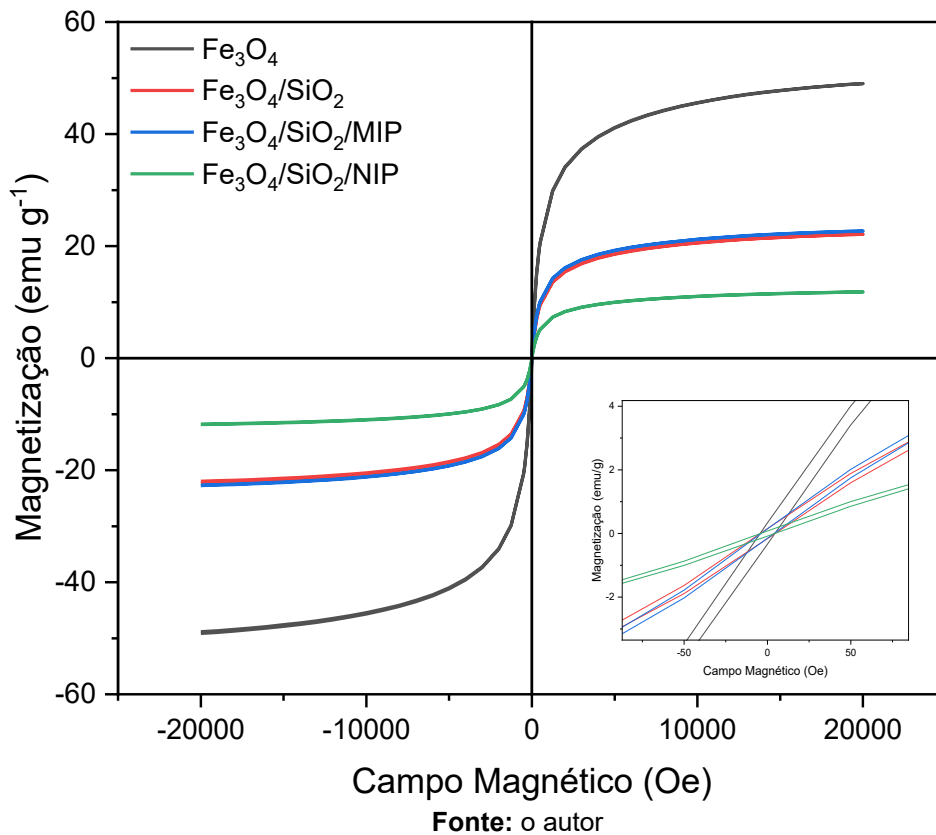
5.1.4 Medidas de magnetização

A magnetometria de amostra vibrante (VSM) tem como finalidade determinar a resposta magnética do material quando este é submetido à aplicação de um campo magnético fixo por um determinado tempo (SODIPO e AZIZ, 2016). As medidas de magnetização são realizadas para o monitoramento da presença de ferromagnetismo ou ferrimagnetismo nos materiais sintetizados e são apresentadas na Figura 18. Observa-se que a magnetização dos materiais aumenta conforme aumenta a força do campo magnético, obtendo-se assim uma curva sigmóide.

No detalhe da Figura 18 pode-se observar que os materiais apresentaram uma pequena histerese, que é quando a magnetização não retorna ao zero quando retirado

o campo magnético externo. Os materiais exibiram comportamento caracterizado como ferrimagnético, pois seus momentos magnéticos se alinham fortemente na direção de um campo magnético externo e quando este é retirado, parte dos momentos magnéticos volta a se desalinhar, e outra parte mantém o alinhamento obtido quando da aplicação do campo magnético (KUDR *et al.*, 2017).

Figura 18. Curvas de magnetização do Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ (No detalhe da parte inferior direita, é possível observar a pequena histerese obtida para cada um deles)



Para a realizar as medidas de magnetização, o material é colocado sob efeito de um campo magnético até atingir uma magnetização de saturação, que é gerada pelo alinhamento máximo de todos os momentos magnéticos do material. Com a diminuição do campo magnético, o valor de magnetização decresce para o valor de remanência. O campo necessário para remover a magnetização de um material depois de ser submetido ao campo magnético externo é chamado de coercitividade (SODIPO e AZIZ, 2016). Os valores de magnetização de saturação, remanência e coercitividade são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros magnéticos obtidos pela análise de medida magnética

	Magnetização de saturação (emu g ⁻¹)	Remanência (emu g ⁻¹)	Coercitividade (Oe)
Fe ₃ O ₄	48,90	0,33	4,38
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂	22,51	0,15	4,30
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	22,07	0,14	4,01
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	11,54	0,08	4,22

Fonte: o autor

Os valores de magnetização de saturação podem ser considerados uma medida da força magnética máxima dos materiais. Observa-se uma diminuição destes valores após o recobrimento das camadas do material, que é esperada uma vez que a sílica e a rede polimérica protegem a magnetita. Assim, a diminuição nos valores de magnetização aponta para a presença da sílica e do polímero molecularmente impresso na superfície do Fe₃O₄, causando um efeito de blindagem, devido ao fato de que se sintetizados e analisados separadamente, estes materiais não possuem características ferrimagnéticas (GAO *et al.*, 2016; DAI *et al.*, 2014).

A redução dos valores de magnetização de saturação do Fe₃O₄ para os materiais Fe₃O₄/SiO₂ e Fe₃O₄/SiO₂/MIP, pode ser explicada pela ligação química Fe-O-Si, uma vez que a sílica se liga a superfície do óxido de ferro por meio dessa. Com a ligação dos íons de ferro ao silício, o momento magnético desses desaparece, ocasionando a diminuição do ferrimagnetismo e demonstrando a presença de sílica nesses materiais (ALAMRI *et al.*, 2018).

Para o Fe₃O₄/SiO₂/NIP, a magnetização sofre mais um decréscimo, apontando que a polimerização ocorreu na superfície do Fe₃O₄/SiO₂ e que os grupos silano adicionados pelo (3-aminopropil) trietoxissilano para substituir os grupos funcionais iguais aos do complexo *template*-MF do Fe₃O₄/SiO₂/MIP, causaram um efeito de blindagem maior sendo que o polímero não impresso atuou com uma camada de proteção do núcleo magnético, causando a queda da magnetização de saturação (ALAMRI *et al.*, 2018).

Mesmo com a diminuição significativa da magnetização de saturação do Fe₃O₄ de 48,90 emu g⁻¹ para 22,07 emu g⁻¹ do Fe₃O₄/SiO₂/MIP, este material ainda apresenta forte característica magnética, uma vez que pode facilmente ser isolado com a aplicação de um campo magnético externo, como pode ser observado na Figura 19.

Figura 19. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ sem e com aproximação de um campo magnético externo, respectivamente

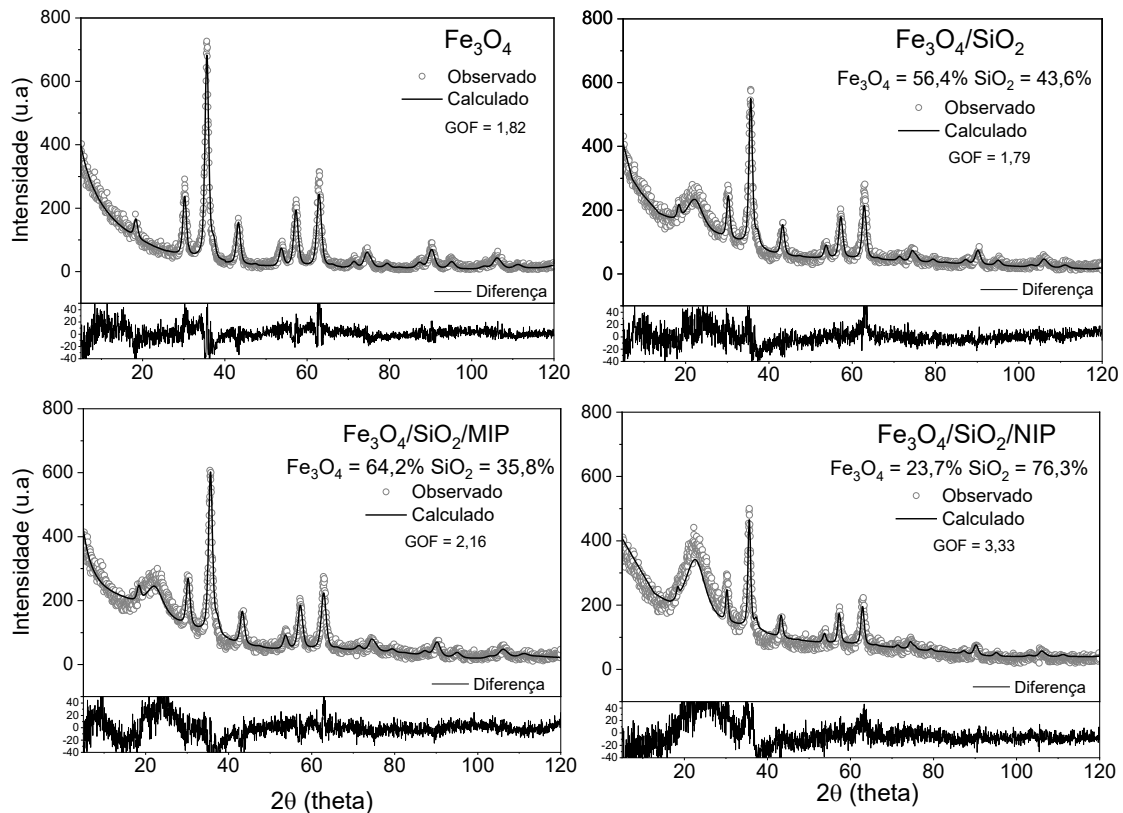


Fonte: o autor

5.1.5 Difração de raios-X

As propriedades estruturais dos materiais sintetizados são analisadas pela difração de raios-X (XRD), a fim de elucidar a estrutura cristalina e, também para auxiliar na compreensão de suas propriedades. Os difratogramas são apresentados na Figura 20 na qual é possível observar o parâmetro GOF, os valores observados (medidas), calculados (refinamento) e a diferença em cada material. No primeiro difratograma é mostrado o padrão de referência Fe_3O_4 (Cubic Fd-3m), seguido pelos difratogramas das partículas de Fe_3O_4 recobertas com SiO_2 (Cubic P213), e do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$.

Figura 20. Difratogramas de raios X para o Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$



Fonte: o autor

Os materiais $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ apresentam uma pequena diminuição na intensidade dos picos da magnetita, devido a proteção com sílica e ao recobrimento polimérico. Porém observa-se nas imagens a preservação dos picos $2\theta = 30,2^\circ$ (220), $35,5^\circ$ (311), $43,2^\circ$ (400), $53,6^\circ$ (422), $57,1^\circ$ (511), e $62,7^\circ$ (440), que se referem aos índices de Miller (respectivamente), de acordo com o padrão de difração de Fe_3O_4 cristalino, (JCPDS, arquivo 19-0629), que evidenciam a presença da fase magnetita em todos os materiais sintetizados (ARVAND, ERFANIFAR e ARDAKI, 2017).

A Tabela 4 apresenta os Parâmetros cristalográficos para amostras Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$, na qual estão expressas as porcentagens de massa, parâmetro de rede ($a = b = c$ para cúbico), tamanho de cristalito e microdeformação.

Tabela 4. Parâmetros cristalográficos para o Fe₃O₄, Fe₃O₄/SiO₂, Fe₃O₄/SiO₂/MIP e Fe₃O₄/SiO₂/NIP

Amostra	Fase	Peso%	Parâmetros de	Tamanho de	Microdeformação (%)
			rede (Å)	cristalito (nm)	
Fe ₃ O ₄	Fe ₃ O ₄	100	a = 8,35(5)	8(1)	0,03(1)
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂	Fe ₃ O ₄	56(2)	a = 8,36(5)	9(2)	0,02(2)
	SiO ₂	44(2)	a = 6,92(5)	2(2)	5(5)
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	Fe ₃ O ₄	64(2)	a = 8,35(5)	8(2)	0,3(1)
	SiO ₂	36(2)	a = 6,92(5)	3(2)	5(5)
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	Fe ₃ O ₄	24(2)	a = 8,35(5)	12(2)	0,2(1)
	SiO ₂	76(2)	a = 6,80(5)	3(2)	8(5)

Fonte: o autor

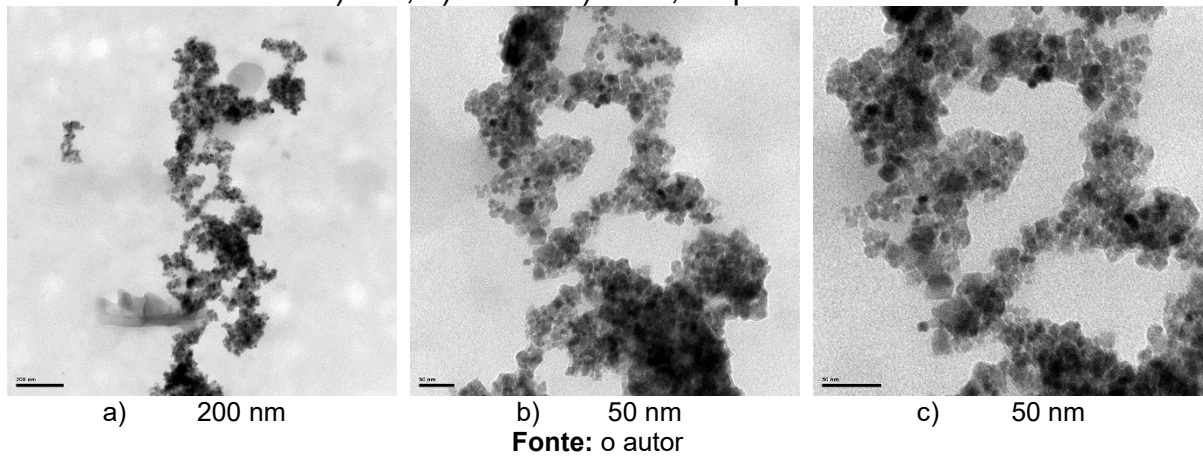
O halo em torno de 22° (2θ) pode ser atribuído à fase nanocristalina de SiO₂ que pode ser refinada por Rietveld ajustando os valores das constantes de Caglioti (U e W) e considerando um arranjo local de uma estrutura tetraédrica de SiO₄ (MARTÍNEZ *et al.*, 2006). A fase Fe₃O₄ parece estar livre de qualquer orientação preferencial e os parâmetros de rede estão de acordo com a literatura. Observa-se que a concentração da fase Fe₃O₄ e SiO₂ nanocristalino varia entre as amostras, sendo o material Fe₃O₄/SiO₂/NIP com a maior quantidade relativa da fase SiO₂.

O tamanho do cristalito tanto da fase de Fe₃O₄ quanto da fase nanocristalina de SiO₂ não apresentou variação significativa entre as amostras. A microdeformação pode ser calculada para ambas as fases. Para Fe₃O₄ a microdeformação foi de cerca de 0,03 % para as amostras de referência e Fe₃O₄/SiO₂, enquanto para Fe₃O₄/SiO₂/MIP e Fe₃O₄/SiO₂/NIP a microdeformação é cerca de 10 vezes maior (0,3 %). O maior valor de microdeformação informa que o número de defeitos nas amostras é maior e que a variação percentual da distância interplanar (Δd/d) também é maior. Os valores de microdeformação para SiO₂ nanocristalino (5 a 8 %) são mais de dez vezes maiores do que para compósitos de Fe₃O₄, o que é uma evidência de que o cristal é altamente desordenado.

5.1.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

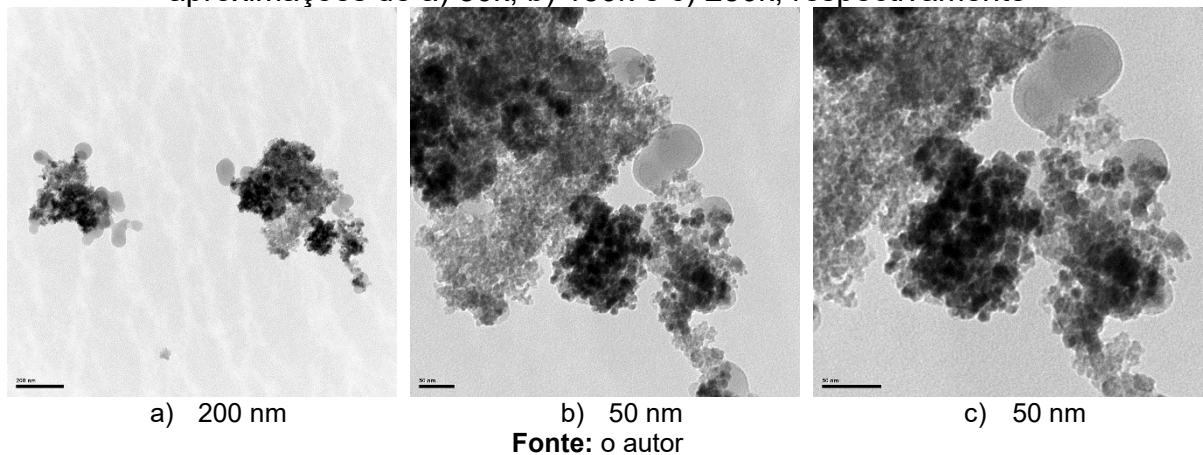
As imagens de micrografias eletrônica de transmissão (TEM) das partículas de Fe_3O_4 estão reunidas na Figura 21. Observa-se que as partículas de Fe_3O_4 apresentam uma estrutura esférica, e a formação de pequenos aglomerados devido a atração magnética entre elas.

Figura 21. Micrografias eletrônica de transmissão para o Fe_3O_4 com aproximações de a) 50k, b) 150k e c) 250k, respectivamente



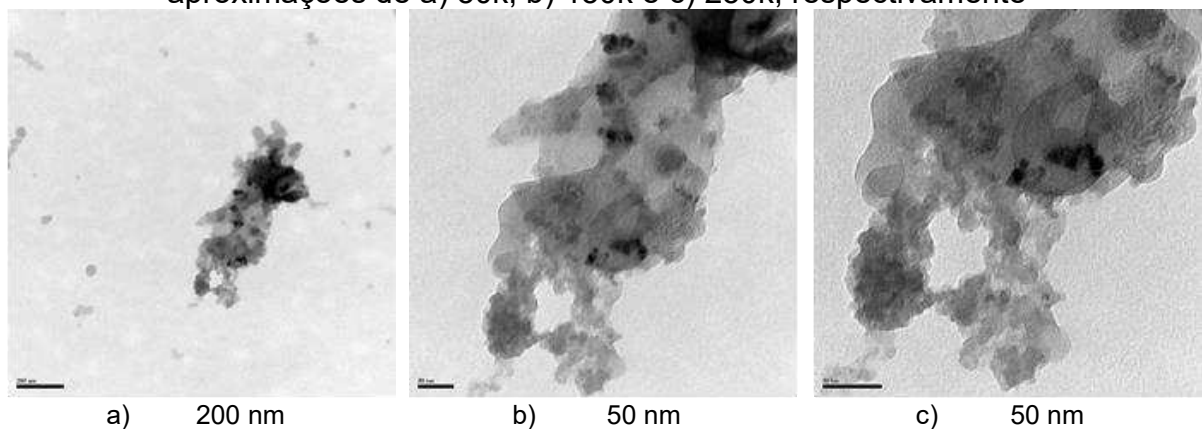
Na Figura 22 são apresentadas as imagens de TEM do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$. A partir das imagens é possível verificar pontos escuros menos acentuados e mais dispersos, indicando que as partículas de Fe_3O_4 estão dispersas junto a matriz de sílica, definida pelas regiões mais claras das imagens (EFFTING, 2020; Li *et al.*, 2009).

Figura 22. Micrografias eletrônica de transmissão para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ com aproximações de a) 50k, b) 150k e c) 250k, respectivamente



Na Figura 23 são apresentadas as imagens de TEM do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$. Pelas micrografias observa-se a presença de regiões que se caracterizam por região clara e região escura. Em comparação com o material $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, nas imagens de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ evidencia-se maior quantidade de regiões mais claras devido a presença da rede polimérica. Estes dados estão em conformidade com os resultados da análise de fisiossorção de N_2 , em que o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ apresenta maior área superficial que os demais materiais sintetizados.

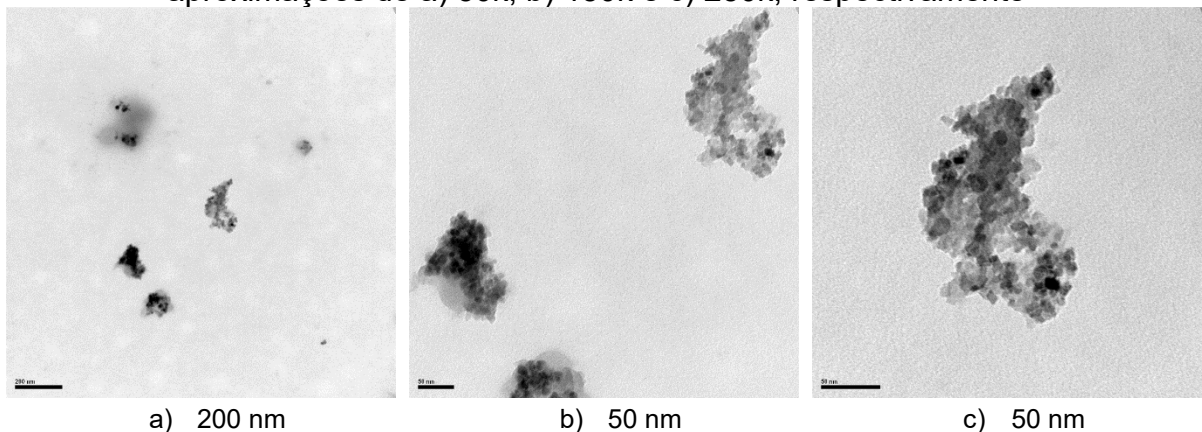
Figura 23. Micrografias eletrônica de transmissão para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ com aproximações de a) 50k, b) 150k e c) 250k, respectivamente



Fonte: o autor

Na Figura 24 são apresentadas as imagens de TEM do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$. De maneira similar ao material $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, nas imagens do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ pode-se também observar pequenos pontos mais escuros característicos do material Fe_3O_4 e regiões mais claras devido a rede polimérica, especialmente na Figura 23b.

Figura 24. Micrografias eletrônica de transmissão para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ com aproximações de a) 50k, b) 150k e c) 250k, respectivamente



Fonte: o autor

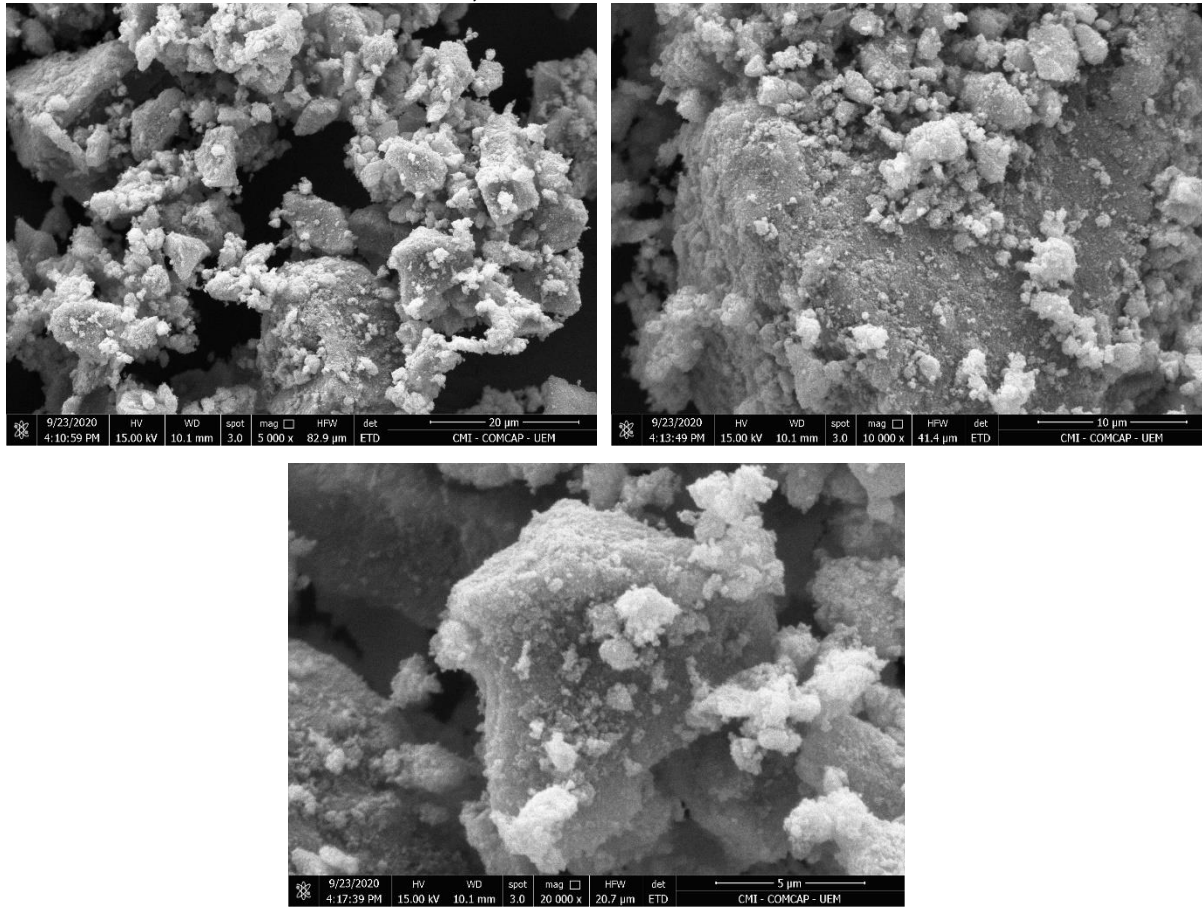
É importante ressaltar que os materiais não apresentam uma estrutura do tipo *core-shell*, que são aqueles em que uma fina camada de SiO_2 passa a recobrir a estrutura formado pelo Fe_3O_4 , formando um sistema constituído por um núcleo (*core*) magnético (Fe_3O_4), recoberto por outro material que favoreça o processo de adsorção (sílica), denominado como casca (*shell*), que levam a formação de materiais adsorventes com estruturas mais esféricas e uniformes, porém com poucas cavidades de impressão química.

Em contraponto, as partículas magnéticas dispersas em uma rede de sílica molecularmente impressa como as apresentadas por este trabalho, possuem uma quantidade maior de cavidades de impressões (FAN *et al.*, 2018). Este tipo de estrutura com uma grande quantidade de Fe_3O_4 tornou as partículas do polímero molecularmente impresso facilmente operadas por um campo magnético externo, devido a agregação do núcleo magnético, conforme resultado discutido na análise de medidas de magnetização e exibido na Figura 19.

5.1.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

A microscopia eletrônica de varredura (SEM) é uma maneira de conhecer morfologia dos materiais. As imagens de microscopia do Fe_3O_4 são reunidas na Figura 25. Nas imagens percebe-se que as partículas de Fe_3O_4 são menores em relação aos demais materiais, e há um aglomerado de partículas heterogêneas irregulares. A aglomeração das partículas de Fe_3O_4 ocorre devido as interações magnéticas características desse tipo de material (NI *et al.*, 2010).

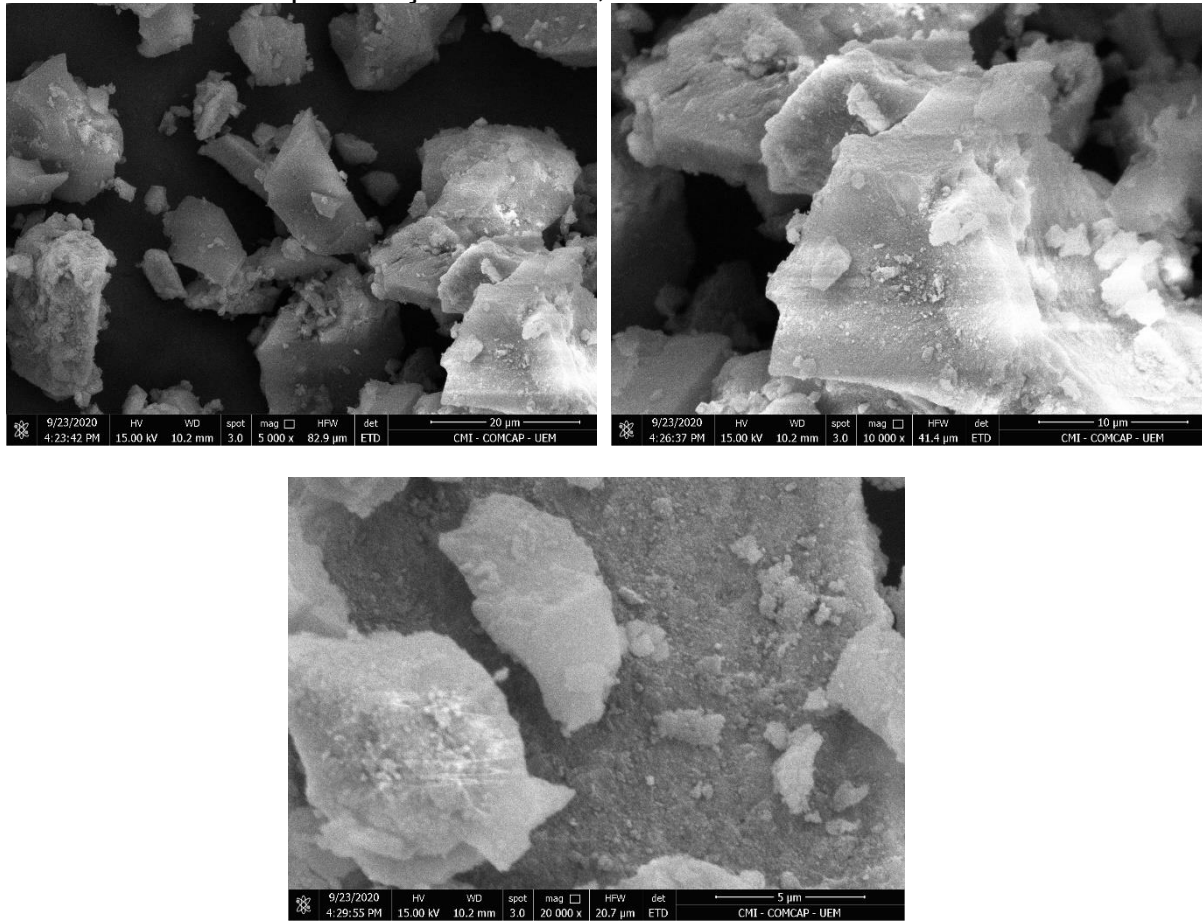
Figura 25. Micrografias eletrônica de varredura para o Fe_3O_4 com aproximações de 5000, 10000 e 20000 vezes



Fonte: o autor

As imagens de microscopia do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, podem ser observadas na Figura 26. Observa-se uma diminuição dos aglomerados e tamanhos irregulares de partículas, indicando o revestimento da sílica sobre o óxido de ferro.

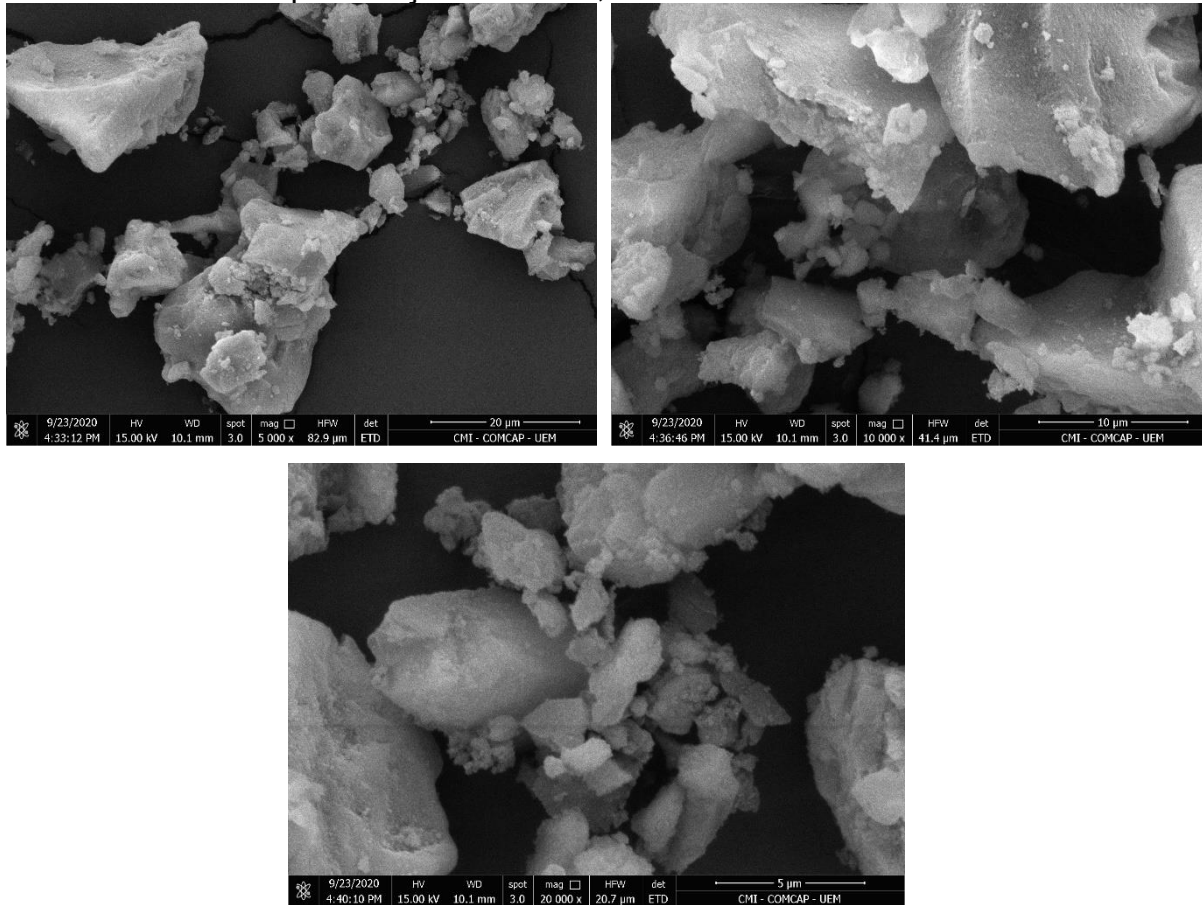
Figura 26. Micrografias eletrônica de varredura para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ com aproximações de 5000, 10000 e 20000 vezes



Fonte: o autor

As imagens de microscopia do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, podem ser observadas na Figura 27. Observa-se que após a polimerização o material continua com partículas de tamanhos irregulares, não compactadas entre si.

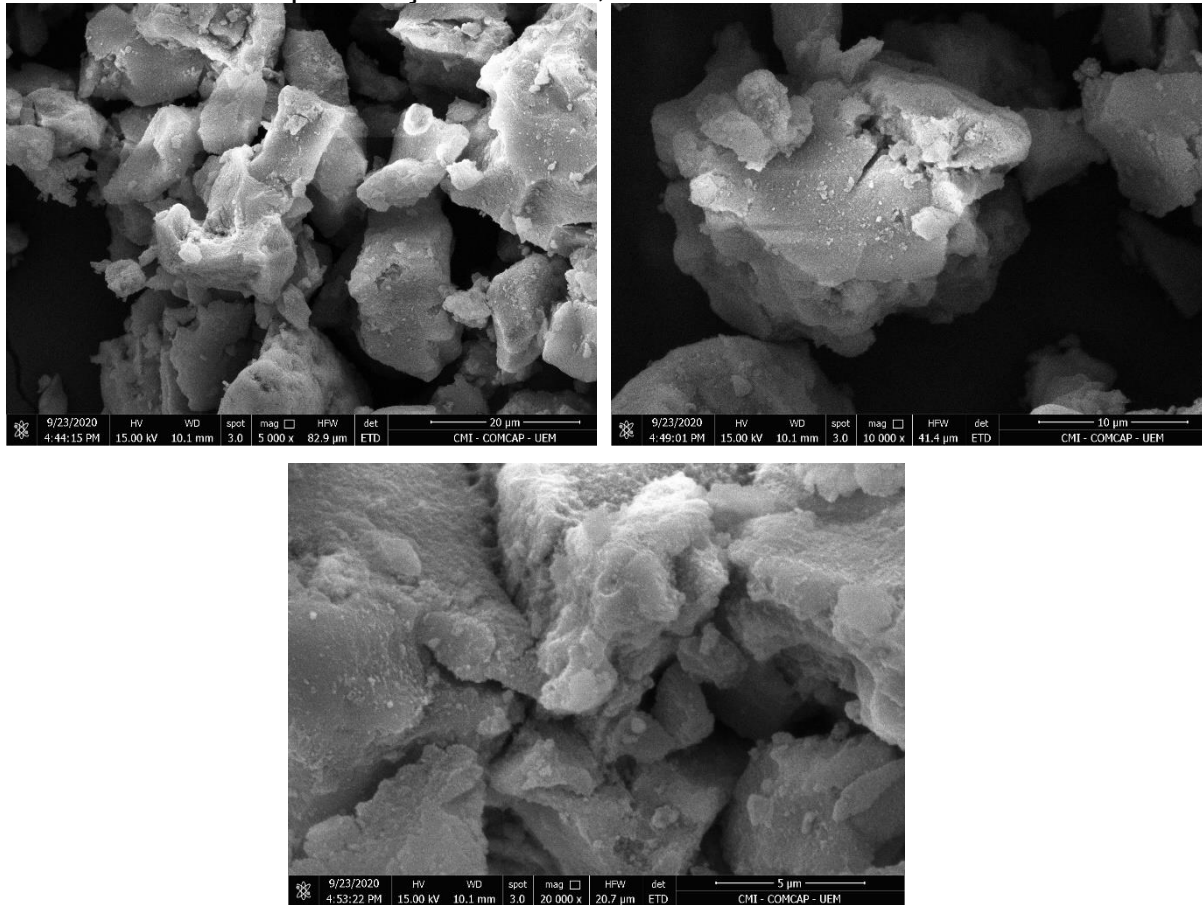
Figura 27. Micrografias eletrônica de varredura para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ com aproximações de 5000, 10000 e 20000 vezes



Fonte: o autor

As imagens de microscopia do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$, podem ser observadas na Figura 28. Assim como nos demais materiais, as partículas apresentam tamanhos irregulares e não estão compactadas entre si. Pode-se inferir que os materiais sintetizados $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ apresentam morfologia muito similar.

Figura 28. Micrografias eletrônica de varredura para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ com aproximações de 5000, 10000 e 20000 vezes



Fonte: o autor

5.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MAGNÉTICA DISPERSIVA

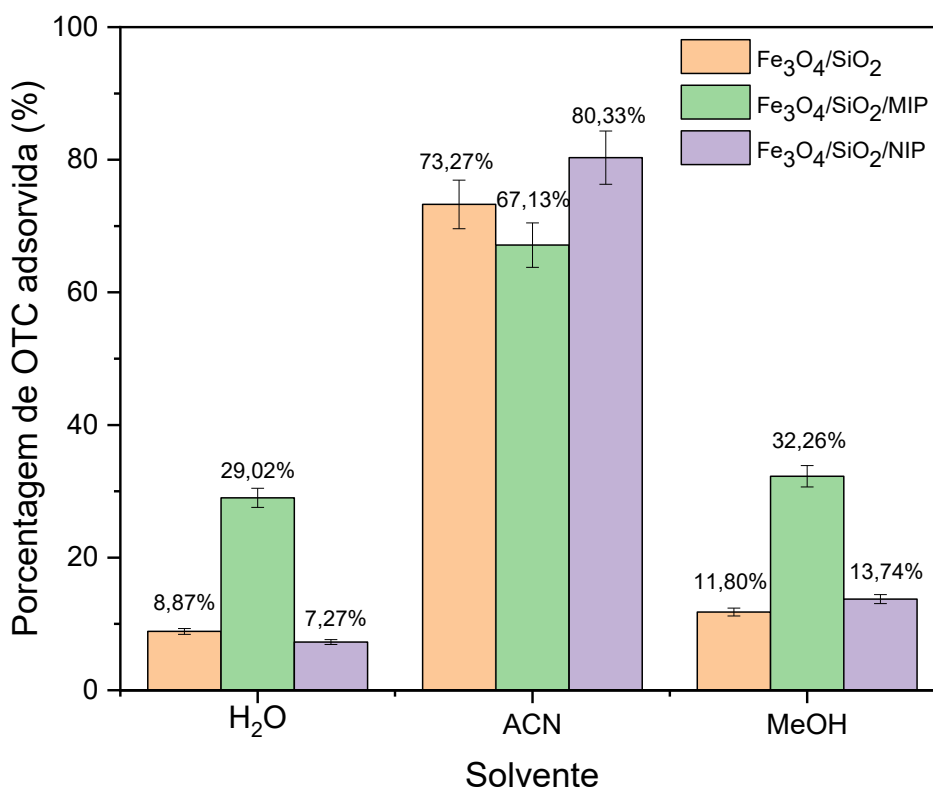
5.2.1 Influência do solvente de adsorção da OTC

A avaliação da influência do solvente de adsorção da OTC foi realizada com três solventes, água, metanol e acetonitrila. A escolha dos solventes foi realizada uma vez que, tanto metanol como acetonitrila, podem ser utilizados em procedimentos de extração de OTC de matrizes alimentícias como etapa preliminar de preparo de amostras.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 29, observa-se uma maior adsorção do analito no solvente acetonitrila. No entanto, neste solvente não se observou diferenças nos percentuais de adsorção da OTC nos três materiais $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$, sendo que os materiais sem impressão química apresentaram uma maior adsorção do analito do que o material

com impressão química, indicando que o solvente desempenha um papel importante na seletividade e capacidade de adsorção do analito de interesse. Em outras palavras, como o solvente acetonitrila não estabelece ligações de hidrogênio com a OTC e com o adsorvente, observa-se que o processo de adsorção da OTC ocorre de maneira não seletiva, sendo adsorvida em maior quantidade pelos materiais sem a impressão química.

Figura 29. Percentuais de adsorção da OTC pelos materiais $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ nos solventes H_2O , ACN e MeOH



Fonte: o autor

A maior adsorção do analito no material com impressão química ocorreu em metanol e em meio aquoso, porém a baixa adsorção em relação ao solvente acetonitrila é um tanto quanto esperada, uma vez que a interação da OTC com o sítio do adsorvente se dá por ligações de hidrogênio com o grupo NH_2 . Assim, em meio aquoso e em metanol pode ocorrer um efeito competitivo e diminuir a interação da OTC com o adsorvente, adsorvendo uma menor quantidade do analito.

Ou seja, as porcentagens de adsorção da OTC são inferiores em meio aquoso e metanol, porém observa-se que o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ adsorve maior quantidade de OTC em comparação aos demais materiais. Sendo assim, é possível inferir que a

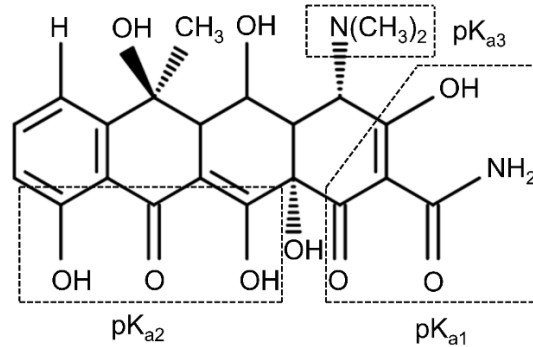
interação da OTC com o adsorvente ocorre por ligação de hidrogênio e que o efeito de impressão química, associado a maior área superficial do material $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ justifique a maior adsorção da OTC mesmo em um meio competitivo, ao se usar solventes polares como a água e metanol. Desta maneira, os estudos posteriores de cinética e isotermas de adsorção e seletividade foram avaliados em meio aquoso e de metanol.

5.2.2 Influência do pH na adsorção da OTC

O pH é considerado um parâmetro importante no processo de adsorção, visto que mudanças de pH afetam a especiação da molécula e a dissociação de grupos funcionais nos locais ativos da superfície do adsorvente, e conseqüentemente, a interação entre a molécula e o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$. A OTC é um composto que apresenta características ácido-base. Os três valores de pK_a da molécula são atribuídos a ionização dos grupos funcionais periféricos (JIN *et al.*, 2017).

O pK_{a1} de 3,4 refere-se ao grupo tricarbonil amida, o pK_{a2} de 7,5 atribuído a hidroxila e carbonila do grupo dicetona fenólica, e o pK_{a3} de 9,9 referente a amina secundária protonada do grupo dimetilamino. Tais valores de pK_a interferem nas características dos sítios de ligação da molécula, e além da ocorrência da molécula como cátion e ânion, há a presença de um zwitterion onde a OTC possui uma carga positiva e outra negativa distribuída em sua estrutura decorrente da transferência de prótons em caráter intramolecular. A existência de três valores de pK_a na molécula de OTC são determinantes para as propriedades de interação intramoleculares e intermoleculares devido às influências do pH e da força iônica decorrentes da ionização dos sítios de ligação (JIN *et al.*, 2017; KULSHRESTHA, GIESE e AGA, 2004). A Figura 30 apresenta a estrutura molecular da OTC com as regiões dos grupos funcionais de origem de cada valor de pK_a .

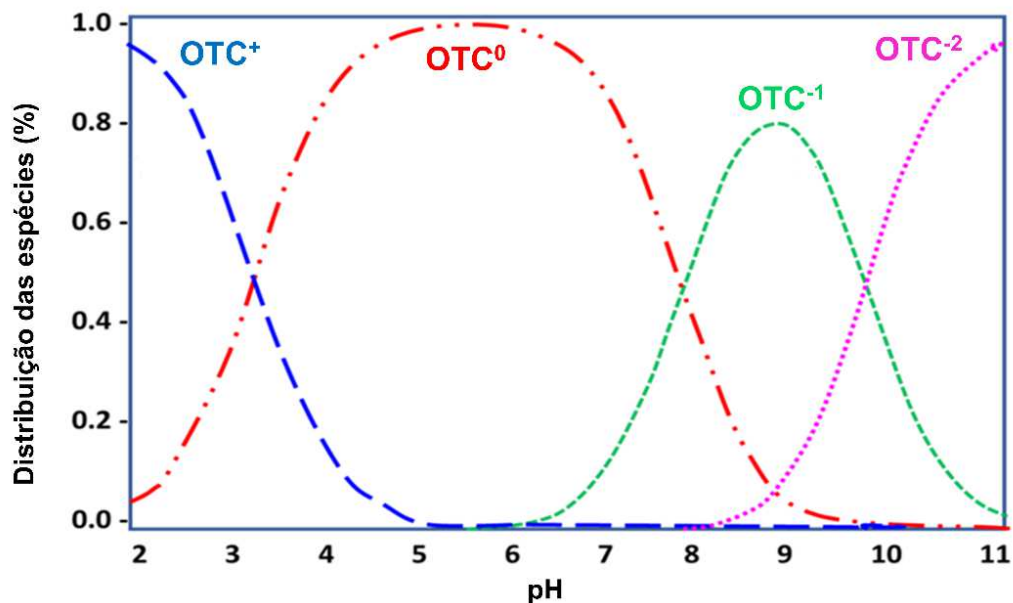
Figura 30. Estrutura molecular e grupos funcionais de pK_a da OTC



Fonte: Adaptado de JIN *et al.*, 2017; JIAO *et al.*, 2008; KULSHRESTHA, GIESE e AGA, 2004.

Na Figura 31 está apresentado o diagrama de especiação da OTC em função do pH. A OTC exibe cargas positivas como um cátion (OTC⁺) quando está em solução de pH abaixo do valor de pK_{a1} (3,4) e o grupo dimetil amônio está protonado. Quando o pH da solução aumenta de 3,4 (pK_{a1} da OTC) para 7,5 (pK_{a2} da OTC), a espécie predominante está na forma neutra como um zwitterion (OTC⁰). Quando o pH estiver entre 7,5 (pK_{a2} da OTC) e 9,9 (pK_{a3} da OTC), a espécie predominante é negativa, como um ânion monovalente (OTC⁻¹), e em pH superior a 9,9 a espécie predominante é um ânion divalente (OTC⁻²). Devido a especiação da OTC ela é pouco solúvel em solução ácida e muito instável em pH alcalino (JIN *et al.*, 2017; JIAO *et al.*, 2008; KULSHRESTHA, GIESE e AGA, 2004).

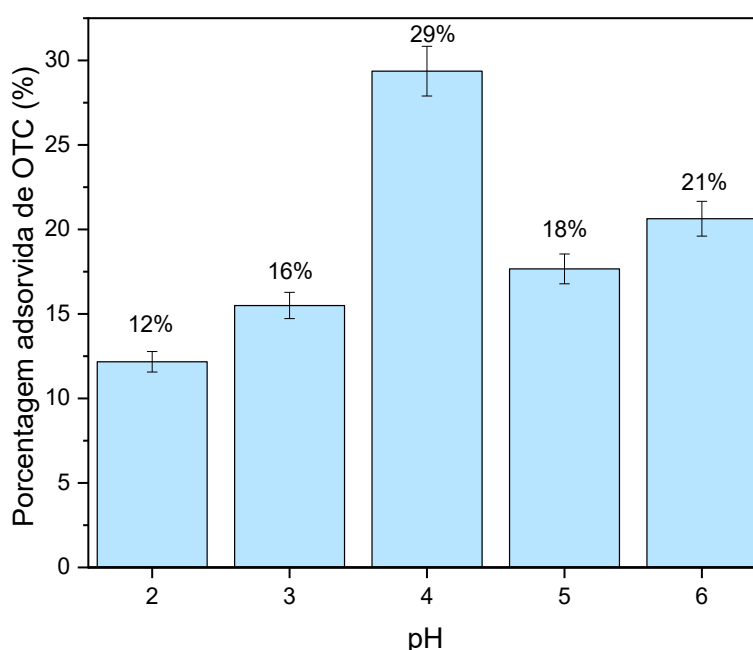
Figura 31. Diagrama de especiação da OTC em função do pH



Fonte: Adaptado de SONG *et al.*, (2019); JIAO *et al.*, (2008).

O estudo da influência do pH na adsorção da OTC é apresentado na Figura 32. O comportamento em particular da quantidade adsorvida em cada pH pode ser explicado considerando os grupos funcionais ionizáveis da OTC e as conformações da molécula em diferentes valores de pH. O pH em que se obteve a maior adsorção da OTC foi de 4,0 enquanto menor adsorção foi observada em meio mais ácido (pH 2,0). Desta maneira, os experimentos seguintes foram realizados em pH 4,0.

Figura 32. Percentuais de adsorção da OTC pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em diferentes valores de pH



Fonte: o autor

Como já mencionado, a quantidade adsorvida da OTC nos diferentes pH é explicada devido as características da molécula em função do pH. Em pH 4,0 a OTC encontra-se em sua maioria como um zwitterion, com carga neutra, porém há uma carga positiva no nitrogênio e uma carga negativa no oxigênio dos grupos funcionais referentes ao pK_{a1} da molécula. Em pH 4,0 o grupo NH_2 do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ possui carga positiva, ou seja, encontra-se protonado, presumindo-se assim que em pH 4,0 o NH_2 protonado do adsorvente com densidade de carga positiva muito alta interage com o oxigênio desprotonado do pK_{a1} e com os demais pares de elétrons do oxigênio das carbonilas e hidroxilas dos grupos funcionais da molécula, ocasionado uma maior adsorção do analito neste pH.

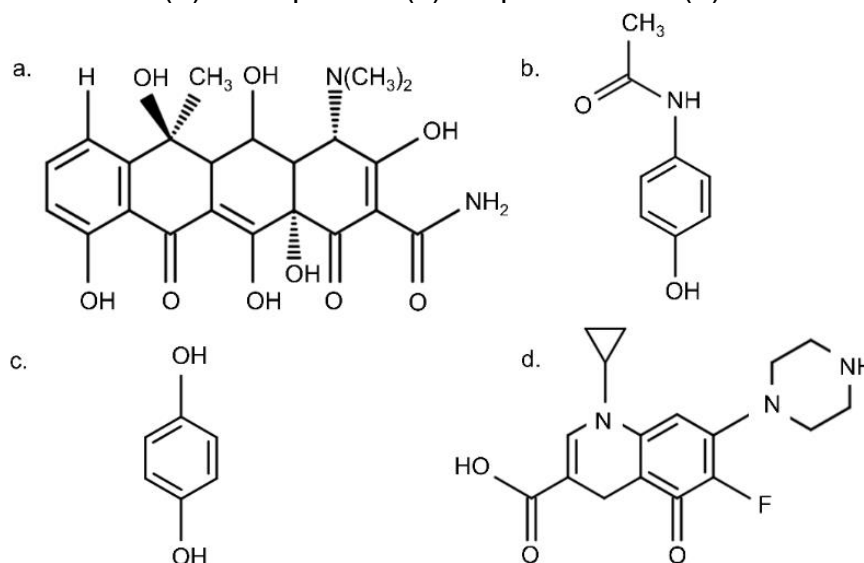
Em pH 2,0 a quantidade adsorvida é menor, uma vez que a hidroxila do pK_{a1} encontra-se protonada, na forma neutra, e $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$ em maior quantidade carregado positivamente, ocasionando uma repulsão entre ambos e adsorvendo uma menor quantidade do analito. Em pH 6,0 a OTC mantém em sua forma zwitteriônica, mas o adsorvente adquire menor quantidade de fração protonada do grupo NH_2 , quando comparado a meios mais ácidos, ocasionando menor interação por atração de cargas com a OTC.

5.2.3 Avaliação do efeito de impressão química do $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$ para a OTC

Para avaliar o efeito de impressão do $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$ em relação ao analito alvo realizou-se estudos de adsorção competitiva de soluções binárias contendo a OTC e possíveis interferentes na proporção 1:1 (m/m) nos materiais $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$ ou $Fe_3O_4/SiO_2/NIP$. A partir desses experimentos, foram determinados os parâmetros relacionados ao desempenho da seletividade do adsorvente: coeficiente de distribuição (K_d), coeficiente de seletividade (k) e coeficiente de seletividade relativo (k'), calculados a partir das Equações 5, 6 e 7 descritas no Item 4.5.3.

A escolha dos interferentes foi realizada levando em consideração a estrutura química e os grupos funcionais em comparação com o OTC. O paracetamol e a hidroquinona foram escolhidos devido ao anel aromático com hidroxila, e a ciprofloxacina foi selecionado devido à sua fração beta-dicetona semelhante à OTC, que poderiam competir com o *template* pelas cavidades dos materiais. Na Figura 33, são apresentadas a fórmula estrutural da OTC (a) e dos interferentes escolhidos, paracetamol (b), hidroquinona (c) e ciprofloxacina (d). Os valores obtidos para o coeficiente de distribuição, coeficiente de seletividade e coeficiente de seletividade relativo (k') são apresentados nas Tabelas 5, 6 e 7.

Figura 33. Fórmula estrutural da OTC a) e dos interferentes escolhidos, paracetamol (b) hidroquinona (c) e ciprofloxacina (d)



Fonte: Adaptado de PENG *et al.*, 2019; MA *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2009.

Tabela 5. Parâmetros relacionados ao efeito de impressão para OTC e paracetamol
 K_d (mL g⁻¹)

Adsorvente	Solvente	K_d (mL g ⁻¹)			
		OTC	Paracetamol	k	K'
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	H ₂ O	831,72	6,36	130,77	99,59
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	H ₂ O	14,09	10,73	1,31	
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	MeOH	721,07	21,45	33,61	68,10
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	MeOH	6,75	31,08	0,49	

Fonte: o autor

Tabela 6. Parâmetros relacionados ao efeito de impressão para OTC e hidroquinona
 K_d (mL g⁻¹)

Adsorvente	Solvente	K_d (mL g ⁻¹)			
		OTC	Hidroquinona	k	K'
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	H ₂ O	423,97	45,82	9,25	2,26
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	H ₂ O	108,82	26,65	4,08	
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	MeOH	465,04	19,90	23,37	5,08
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	MeOH	181,18	39,36	4,60	

Fonte: o autor

Tabela 7. Parâmetros relacionados ao efeito de impressão para OTC e ciprofloxacina

Adsorvente	Solvente	K_d (mL g ⁻¹)			
		OTC	Ciprofloxacina	k	K'
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	H ₂ O	386,73	428,08	0,90	1,52
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	H ₂ O	4,48	7,55	0,59	
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	MeOH	407,88	35,99	11,33	1,36
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	MeOH	154,38	18,61	8,29	

Fonte: o autor

Ao comparar o coeficiente de seletividade relativo (k') do Fe₃O₄/SiO₂/MIP com o Fe₃O₄/SiO₂/NIP em H₂O em pH 4,0 e metanol, observa-se razões com valores acima de 1, que confirmam o efeito de impressão química no material Fe₃O₄/SiO₂/MIP. Os resultados indicam que as partículas de Fe₃O₄/SiO₂/MIP têm maior capacidade de adsorção para a OTC em relação aos interferentes em ambos os solventes estudados, demonstrando que o material tem uma capacidade seletiva. Os valores de k' indicam que o material sintetizado é mais seletivo para a OTC em relação ao interferente paracetamol, e para a hidroquinona e ciprofloxacina apresenta capacidade seletiva menor, decorrente da estrutura molecular desses compostos que competem com as cavidades do material.

Ainda, comparando o material impresso com o polímero não impresso, a menor adsorção da OTC e dos interferentes pode ser explicada pela pouca disponibilidade de sítios de reconhecimento molecular seletivos na estrutura do material Fe₃O₄/SiO₂/NIP, justificável pela troca do complexo OTC-ICPTES pelo APTES. Uma comparação dos valores de K_d para o Fe₃O₄/SiO₂/MIP com o Fe₃O₄/SiO₂/NIP mostra um aumento do K_d para a OTC, enquanto K_d diminui para os interferentes paracetamol e hidroquinona. Porém, observa-se que o K_d aumenta para a ciprofloxacina em meio aquoso pH 4,0 em ambos os materiais, indicando que estes adsorvem mais o interferente.

Pode-se inferir que os valores de seletividade obtidos pelo Fe₃O₄/SiO₂/MIP para molécula de ciprofloxacina não são elevados, devido ao método de síntese do adsorvente. A ligação covalente formada pelo complexo OTC-ICPTES durante a etapa de síntese, garante ao Fe₃O₄/SiO₂/MIP a preservação das cavidades do *template* em tamanho e forma. Assim, a molécula de ciprofloxacina por ser semelhante a OTC compete com o *template* pelas cavidades do material.

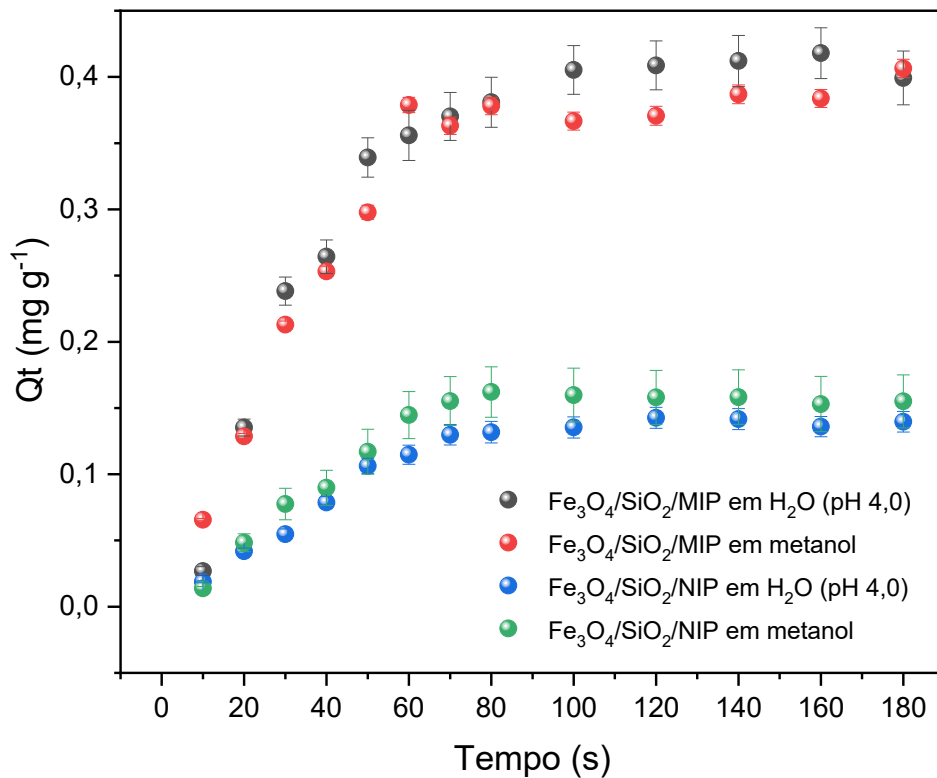
Contudo, estes resultados avaliados junto com os valores de coeficiente de seletividade relativo (k'), que possui valor maior que 1,0, demonstram que o

$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ possui sítios seletivos para OTC, pois mesmo as moléculas interferentes possuem estruturas e grupos funcionais semelhantes, houve uma adsorção preferencial da OTC.

5.2.4 Cinética de adsorção

Para determinar o tempo de equilíbrio do analito entre fase sólida e líquida, o efeito do tempo de adsorção da OTC pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ foi estudado. Na Figura 34 são apresentados os perfis de adsorção da OTC em metanol e meio aquoso (pH 4,0). É possível observar que para ambos os materiais há um aumento mais acentuado na adsorção da OTC na fase inicial do processo, seguido por uma diminuição da taxa de adsorção até o equilíbrio ser alcançado em 80 segundos para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, e em 120 segundos em H_2O (pH 4,0) e 100 segundos em metanol para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$.

Figura 34. Influência do tempo de contato entre $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ com solução de OTC $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ em água (pH 4,0) e metanol no processo de adsorção

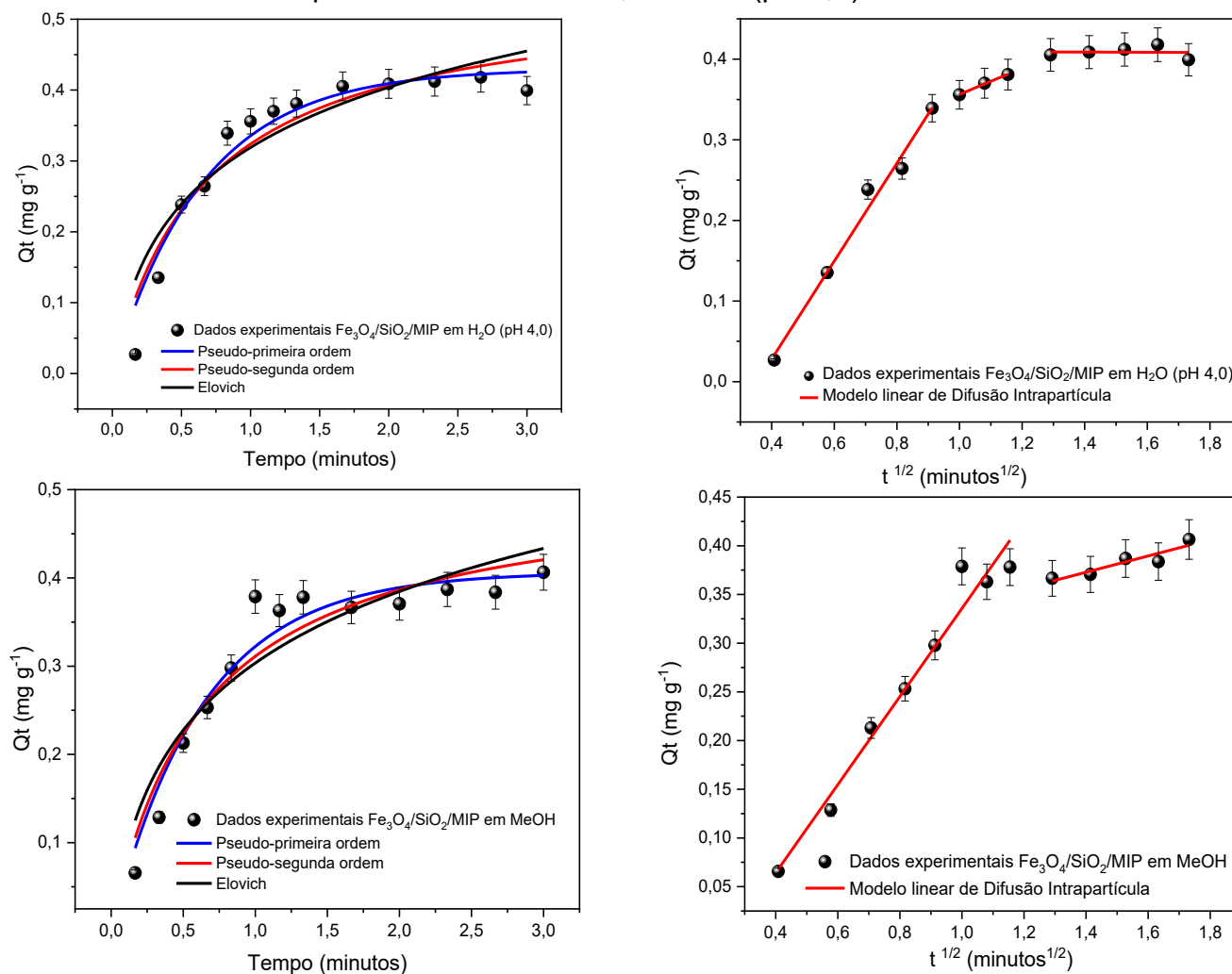


Fonte: o autor

O tempo de equilíbrio para a adsorção da OTC pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ é considerado baixo, fator primordial para o desenvolvimento de um método analítico com uma boa frequência. A rápida adsorção pode ser explicada pela natureza do método adsorativo e associada a muitos locais ativos nas cavidades de impressão do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, o que resulta em um processo de transferência de massa das moléculas de OTC da solução para os sítios de ligação mais rápido. Essa característica era esperada para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, devido a extração em fase sólida magnética dispersiva ser realizada com agitação em vórtex, que é mais vigorosa quando comparada a agitação magnética ou agitação em mesa agitadora.

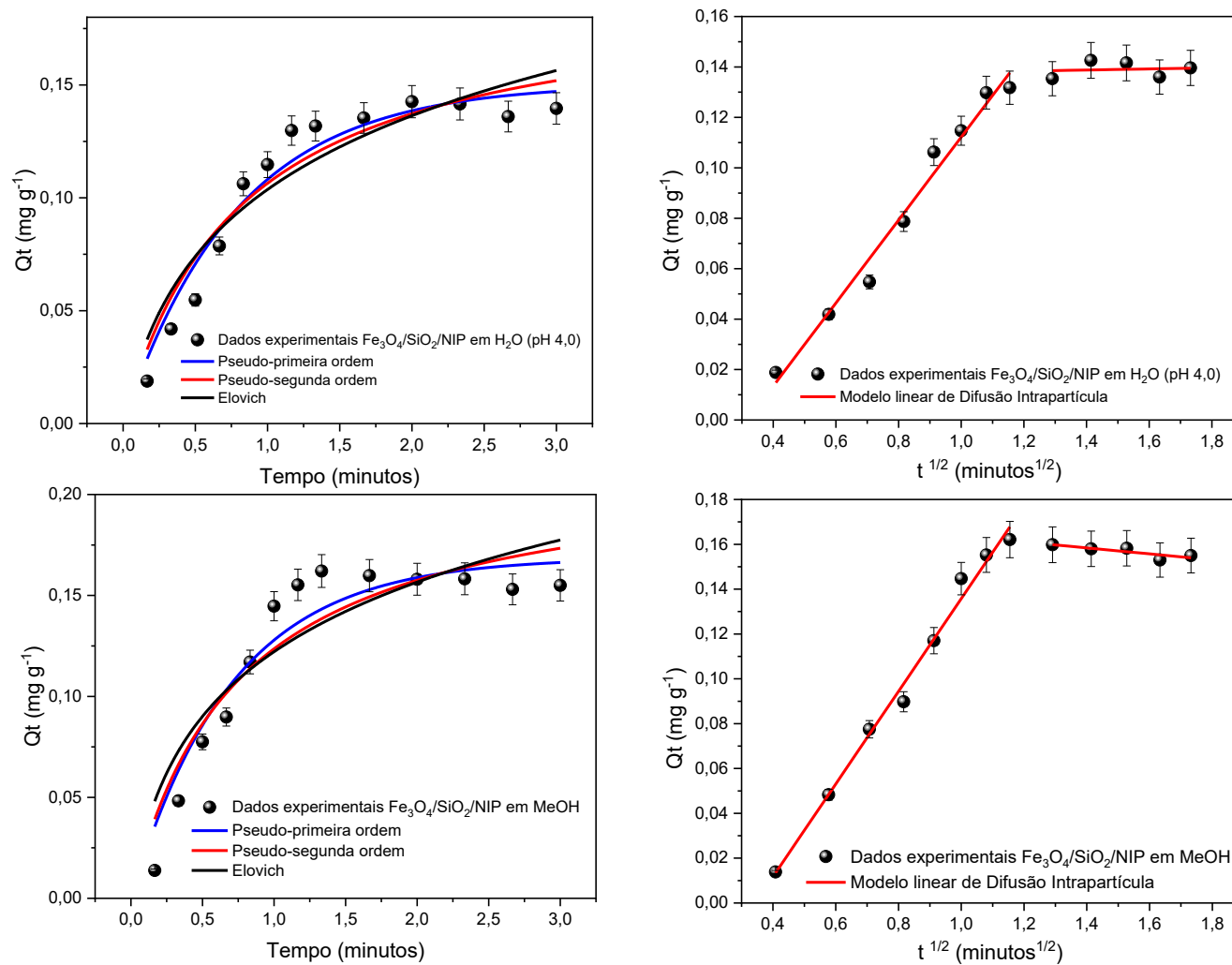
Aos dados cinéticos foram aplicados os modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem e Elovich não lineares e modelo de Difusão intrapartícula linear. Os gráficos dos dados ajustados aos modelos cinéticos para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ são apresentados na Figura 35 e 36, respectivamente.

Figura 35. Modelos de Pseudo-primeira ordem, Pseudo-segunda ordem, Elovich e Difusão Intrapartícula aplicados aos dados cinéticos para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, em H_2O (pH 4,0) e MeOH



Fonte: o autor

Figura 36. Modelos de Pseudo-primeira ordem, Pseudo-segunda ordem, Elovich e Difusão Intrapartícula aplicados aos dados cinéticos para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$, em H_2O (pH 4,0) e MeOH



Fonte: o autor

Os parâmetros cinéticos preditos pelos modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem e Elovich não lineares e modelo de Difusão intrapartícula linear, são apresentados na Tabela 8. A confiabilidade dos ajustes aos modelos foi verificada avaliando os coeficientes de determinação (R^2) e comparando os valores de quantidade experimental ($Q_{e_{exp}}$) com aqueles previstos pelos modelos ($Q_{e_{cal}}$). O modelo de pseudo-primeira ordem, foi o modelo que melhor se ajustou aos dados, com o coeficiente de determinação (R^2) de 0,95 e 0,95, em água pH 4,0 e metanol, respectivamente. Este modelo apresentou $Q_{e_{cal}}$ (0,43 e 0,40 mg g⁻¹ em água pH 4,0 e metanol, respectivamente) próximo ao $Q_{e_{exp}}$ (0,42 e 0,40 mg g⁻¹ em água pH 4,0 e metanol, respectivamente).

O modelo de PPO pressupõe que a taxa de adsorção do analito é proporcional ao número de sítios desocupados e que estes sítios possuem energias iguais (PLAZINSKI, RUDZINSKI e PLAZINSKA, 2009). Como no estudo de cinética de adsorção não há saturação do material, ou seja, não é usada elevada concentração do adsorvato a ponto de saturar os sítios do adsorvente, pressupõem-se que em equilíbrio, a OTC irá interagir com um único sítio, o NH₂ do Fe₃O₄/SiO₂/MIP.

O modelo de pseudo-segunda ordem apresentou $Q_{e_{cal}}$ (0,54 e 0,50 mg g⁻¹ em água pH 4,0 e metanol, respectivamente) superior ao valor de $Q_{e_{exp}}$ (0,42 e 0,40 mg g⁻¹ em água pH 4,0 e metanol, respectivamente). Pressupõem-se que o modelo de PSO assume a existência de diferentes sítios ativos e de energias de ligação heterogêneas do material adsorvente, porém como no estudo cinético não há saturação dos sítios do adsorvente com concentrações de OTC, o modelo de PSO não apresentou sensibilidade para detectar dois sítios de interação, possuindo um ajuste menos satisfatório quando comparado ao modelo PPO.

O modelo de Elovich assume que a taxa de adsorção do adsorvente diminui exponencialmente à medida que a quantidade de adsorvato adsorvido aumenta. Ele é eficiente para cobrir a maior faixa do curso da adsorção lenta, falhando após o fim do processo em que a operação se torna muito lenta (LIMA, ADEBAYO e MACHADO, 2015). Os bons ajustes aos dados experimentais, indicam sítios ativos energeticamente heterogêneos, pois o modelo de Elovich foi capaz de prever a rápida adsorção na camada externa do adsorvente e posterior processo de difusão do analito para o interior e exterior dos poros do adsorvente.

Para o modelo de difusão intrapartícula, o ajuste dos dados de cinética em água em pH 4,0 no gráfico Q_t por $t^{1/2}$ foi possível obter três inclinações, indicando que

ocorreram três etapas no transporte de massa, sendo a terceira inclinação indica a etapa na qual o equilíbrio de adsorção é atingido (não apresentada na Tabela 8). Os dados experimentais em solvente metanol apresentou duas inclinações de reta, sendo estas a etapa de difusão do analito para a superfície externa e difusão intrapartícula, respectivamente, corroborando com os dados do modelo de Elovich.

O intercepto da primeira etapa é representado pela constante de difusão intrapartícula (C), a qual é proporcional à espessura da camada limite (mg g^{-1}). Quando o valor da constante de difusão apresenta valores positivos e não passa pela origem, significa que o processo de difusão intrapartícula não é o único responsável pelo processo de adsorção, com a adsorção também ocorrendo na superfície. É importante ressaltar que quando o valor de C , tem um valor negativo sugere um efeito de resistência à difusão externa do filme (NANICUACUA *et al.*, 2022).

Para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ os dados se ajustaram com as mesmas características dos ajustes para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$. Como o polímero não impresso foi sintetizado com o APTES para substituir o complexo OTC-ICPTES, observa-se um tempo de equilíbrio de adsorção maior e uma capacidade de adsorção menor do que o polímero impresso, verificado pelos valores experimentais e dos modelos para Q_e . As diferenças eram esperadas, uma vez que nas caracterizações do material pode-se influir que o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ apresentava uma área específica, volume e diâmetro médio de poro menores que o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, características que influenciam no processo de adsorção.

Tabela 8. Parâmetros preditos pelos modelos de cinética de adsorção da OTC em Fe₃O₄/SiO₂/MIP e Fe₃O₄/SiO₂/NIP em água (pH 4,0) e metanol

Modelo	Parâmetro	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP em água (pH 4,0)	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP em MeOH	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP em água (pH 4,0)	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP em MeOH
		Q _{e,exp} (mg g ⁻¹)	0,42	0,40	0,14
Pseudo-primeira ordem	K ₁ (min ⁻¹)	1,51	1,51	1,26	1,41
	Q _e (mg g ⁻¹)	0,43	0,40	0,15	0,17
	Adj. R ²	0,94	0,94	0,94	0,91
	R ²	0,95	0,95	0,95	0,92
	RMSE	0,03	0,02	0,01	0,01
Pseudo-segunda ordem	K ₂ (min ⁻¹)	2,68	3,05	6,34	6,07
	Q _e (mg g ⁻¹)	0,54	0,51	0,19	0,22
	Adj. R ²	0,90	0,90	0,99	0,87
	R ²	0,91	0,91	0,99	0,88
	RMSE	0,03	0,03	0,01	0,01
Elovich	β (g mg ⁻¹)	3,31	3,47	8,24	8,05
	α (min ⁻¹ mg g ⁻¹)	3,13	2,97	0,74	1,07
	Adj. R ²	0,96	0,99	0,99	0,96
	R ²	0,96	0,99	0,99	0,97
	RMSE	0,01	0,01	0,01	0,01
Difusão intrapartícula	K _{id1} (mg g ⁻¹ min ^{-1/2})	0,60	0,45	0,17	0,20
	C (mg g ⁻¹)	-0,21	-0,11	-0,05	-0,07
	Adj. R ²	0,96	0,98	0,98	0,98
	R ²	0,97	0,99	0,99	0,99
	RMSE	0,02	0,01	0,01	0,01
	K _{id2} (mg g ⁻¹ min ^{-1/2})	0,18	0,25	0,02	0,03
	C (mg g ⁻¹)	0,17	0,05	0,13	0,12
	Adj. R ²	0,99	0,85	0,99	0,97
	R ²	0,99	0,81	0,99	0,98
	RMSE	0,01	0,07	0,01	0,01

K₁ – Constante de velocidade de pseudo-primeira ordem (min⁻¹); K₂ – constante de velocidade de pseudo-segunda ordem (min⁻¹); β - constante relacionada com a extensão da superfície da cobertura e a energia de ativação (g mg⁻¹); α - constante de velocidade de adsorção inicial (min⁻¹ mg g⁻¹); K_{id} – coeficiente de difusão interno (mg g⁻¹ min^{-1/2}); C – constante relacionada à espessura da camada limite (mg g⁻¹); RSME: Root Square Mean Error.

Fonte: o autor

5.2.5 Isotermas de adsorção

O estudo das isotermas de adsorção mostra a quantidade de um soluto adsorvida por uma superfície adsorvente (Q_e), em função da concentração de equilíbrio do soluto (C_e). Com o intuito de obter informações sobre a existência de sítios de ligação com energias diferentes e elucidar o fenômeno adsorptivo, os dados obtidos experimentalmente foram ajustados aos modelos não-lineares de Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich para um e dois sítios de interação. Os parâmetros calculados para $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$ e $Fe_3O_4/SiO_2/NIP$, em água pH 4,0 e metanol estão dispostos na Tabela 9.

O modelo de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção apresentou melhor ajuste aos dados experimentais, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,99 em água pH 4,0 e metanol, e um erro de ajuste ao modelo (RMSE, do inglês, *root mean square error*) de 0,27 e 0,34, respectivamente, sendo o menor RMSE entre todos os modelos testados. A capacidade máxima de adsorção predita pelo modelo é a soma dos parâmetros b_1 e b_2 , igual a 8,81 e 8,89 $mg\ g^{-1}$, valor próximo ao encontrado experimentalmente de 8,78 e 8,75 $mg\ g^{-1}$. O modelo prevê a existência de dois sítios de adsorção com diferentes afinidades pelo analito, que são determinados pelos parâmetros K_1 e K_2 ($L\ mg^{-1}$).

O modelo de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção é a combinação dos modelos de Langmuir e Freundlich, que sugere diferentes sítios de interação no adsorvente, com afinidades diferentes em relação a ligação com o analito. Supõem-se assim, que em baixas concentrações, a adsorção da OTC ocorre nos sítios de ligação de NH_2 do $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$, com alta afinidade e que estão na superfície e é governado pelo modelo de Freundlich. E, em altas concentrações o modelo de Langmuir assume o processo de adsorção, que acontece em sítios de ligação de baixa afinidade, no interior do $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$, ou seja, quando há alta concentração do analito até saturar é possível detectar a presença de dois sítios sendo eles o NH_2 atribuído à cavidade impressa de maior afinidade (K_1) e responsável pela maior adsorção da OTC e, o NH_2 no material cuja impressão química não foi adequadamente formada, também conhecida como sítio não específico, atribuído ao (K_2), com menor adsorção. Os ajustes das isotermas de adsorção do $Fe_3O_4/SiO_2/MIP$ para a OTC são apresentadas na Figura 37.

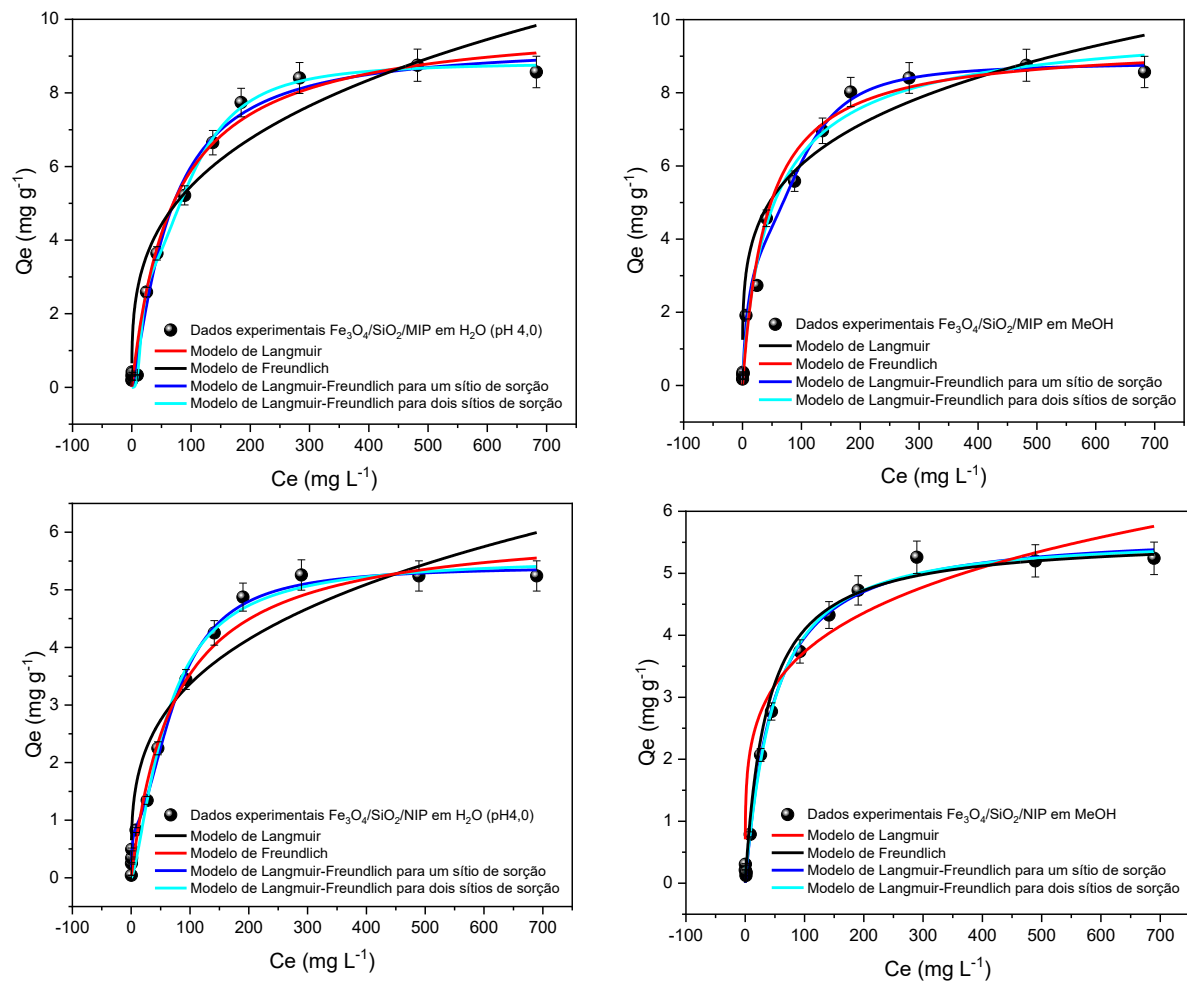
Tabela 9. Parâmetros preditos pelos modelos de isoterma para adsorção da OTC em Fe₃O₄/SiO₂/MIP e Fe₃O₄/SiO₂/NIP em água (pH 4,0) e metanol

Modelo	Parâmetro	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP em água (pH 4,0)	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP em MeOH	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP em água (pH 4,0)	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP em MeOH
		Q _e exp (mg g ⁻¹)	8,78	8,75	5,27
Langmuir	K _L (L mg ⁻¹)	0,01	0,02	0,01	0,02
	Q _{max} (mg g ⁻¹)	10,01	9,36	6,14	5,59
	Adj. R ²	0,98	0,88	0,92	0,87
	R ²	0,98	0,88	0,92	0,87
	RSME	0,26	0,59	0,33	0,36
Freundlich	K _F (mg g ⁻¹)	1,33	1,99	0,85	1,32
	n	3,27	4,16	3,34	4,45
	Adj. R ²	0,93	0,93	0,88	0,88
	R ²	0,93	0,93	0,88	0,88
	RSME	0,56	0,44	0,44	0,35
Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção	K (L mg ⁻¹)	0,01	0,01	0,01	0,02
	b (mg g ⁻¹)	9,32	10,05	5,56	5,68
	n	1,25	0,86	1,44	1,06
	Adj. R ²	0,99	0,98	0,99	0,99
	R ²	0,99	0,98	0,99	0,99
	RSME	0,35	0,41	0,10	0,15
Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção	K ₁ (L mg ⁻¹)	0,06	0,07	1,07	1,52
	b ₁ (mg g ⁻¹)	5,93	5,12	0,86	0,31
	n ₁	2,38	1,94	1,15	1,04
	K ₂ (L mg ⁻¹)	0,01	0,01	0,01	0,02
	b ₂ (mg g ⁻¹)	2,88	3,77	4,50	5,42
	n ₂	3,98	2,95	1,96	1,16
	Adj. R ²	0,99	0,99	0,99	0,99
	R ²	0,99	0,99	0,99	0,99
	RSME	0,27	0,34	0,14	0,13

K_L(Langmuir), K_F(Freundlich): parâmetro relacionado a afinidade do adsorvato-adsorvente; b_{1,2} – constante relacionada à capacidade máxima de adsorção; n_{1,2} – constante relacionada a intensidade de adsorção ou grau de heterogeneidade; RSME: Root Square Mean Error.

Fonte: o autor

Figura 37. Isoterma de adsorção com aplicação do modelo de Langmuir, Freundlich e Langmuir-Freundlich para um e dois sítios de adsorção para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em água (pH 4,0) e metanol



Fonte: o autor

Para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NIP}$ o modelo de Langmuir-Freundlich para dois sítios de adsorção também apresentou melhor ajuste aos dados experimentais, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,99 em água pH 4,0 e metanol, e um erro de ajuste ao modelo de 0,14 e 0,13, respectivamente. A capacidade máxima de adsorção predita por esse modelo é a soma dos parâmetros b_1 e b_2 , igual a 5,36 e 5,73 mg g^{-1} , valor próximo ao encontrado experimentalmente de 5,27 e 5,28 mg g^{-1} . Ainda, os dados se ajustaram satisfatoriamente ao modelo de Langmuir-Freundlich para um sítio de adsorção, com R^2 de 0,99, e capacidade máxima de adsorção de 5,56 e 5,68 mg g^{-1} , para água em pH 4,0 e metanol, respectivamente. Os resultados indicam que o material possui sítios com afinidade pela OTC não relacionados a impressão do material, e que estes sítios sejam interações entre a superfície do material e a OTC. A Tabela 10 apresenta uma comparação da capacidade máxima adsortiva e do tempo de equilíbrio de polímeros molecularmente impressos descritos na literatura para moléculas de TCs.

Tabela 10. Comparação da capacidade adsortiva de polímeros molecularmente impressos utilizados para adsorção de TCs descritos na literatura

Material	Template	Capacidade máxima adsortiva (mg g^{-1})	Tempo de equilíbrio (min)	Referência
MMINs	TC	12,1	100	Dai <i>et al.</i> , 2012.
MMINs	TC	22,4	125	Ma <i>et al.</i> , 2017.
DA+BSA-MMIPs	TC	31,7	30	Xu <i>et al.</i> , 2018.
HMIP@CD	TC	6,93	30	LI <i>et al.</i> , 2018.
MMIP NPs	TC	40,4	60	Gao <i>et al.</i> , 2020.
MIP-SPME	TC	2,35	-	LU <i>et al.</i> , 2020.
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$	OTC	8,7	1,3	Este trabalho

MMINs: magnetic molecularly imprinted nanoparticles; DA+BSA-MMIPs: nanomateriais magnéticos impressos molecularmente que adotaram monômeros bifuncionais; HMIP@CD: polímero oco molecularmente impresso suportado em quantum dots de carbono; MMIP NPs: nanopartículas poliméricas magnéticas de impressão molecular core-shell; MIP-SPME: microextração em fase sólida molecularmente impressa.

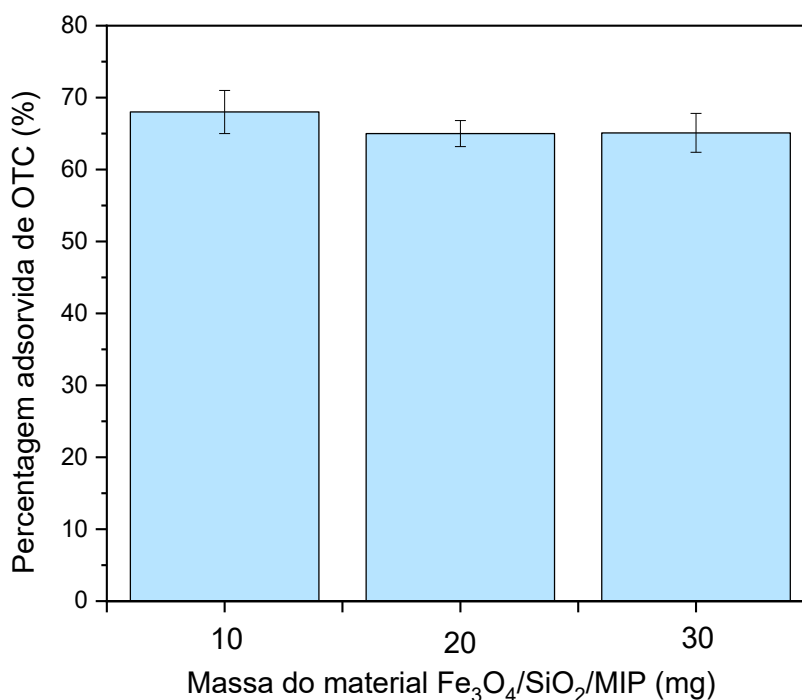
O $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ proposto por este trabalho apresenta capacidade máxima adsortiva dentro da faixa de outros trabalhos descritos na literatura, porém o material possui tempo de equilíbrio de adsorção da OTC rápido, de 80 segundos (1,3 minutos), uma ampla vantagem aos demais materiais. Assim, com os resultados apresentados até o momento, o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ possui características promissoras para ser empregado como material adsorvente em MDSPE.

5.3 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS RELATIVOS AO MÉTODO MDSPE

5.3.1 Influência da massa e do tempo de vórtex na adsorção da OTC pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$

Para avaliar a quantidade de massa do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ necessária na adsorção da OTC, realizou-se um estudo variando a massa de material entre 10,0; 20,0 e 25,0 mg, realizando agitação em vórtex por 180 segundos da mistura com 40,0 mL de uma solução de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de OTC em pH 4,0. Conforme observado na Figura 38, a porcentagem de adsorção do analito pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ não aumentou conforme a massa do adsorvente foi aumentada, sendo assim mantida a massa de 10,0 mg do adsorvente para os estudos posteriores.

Figura 38. Influência da massa do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ na adsorção de OTC



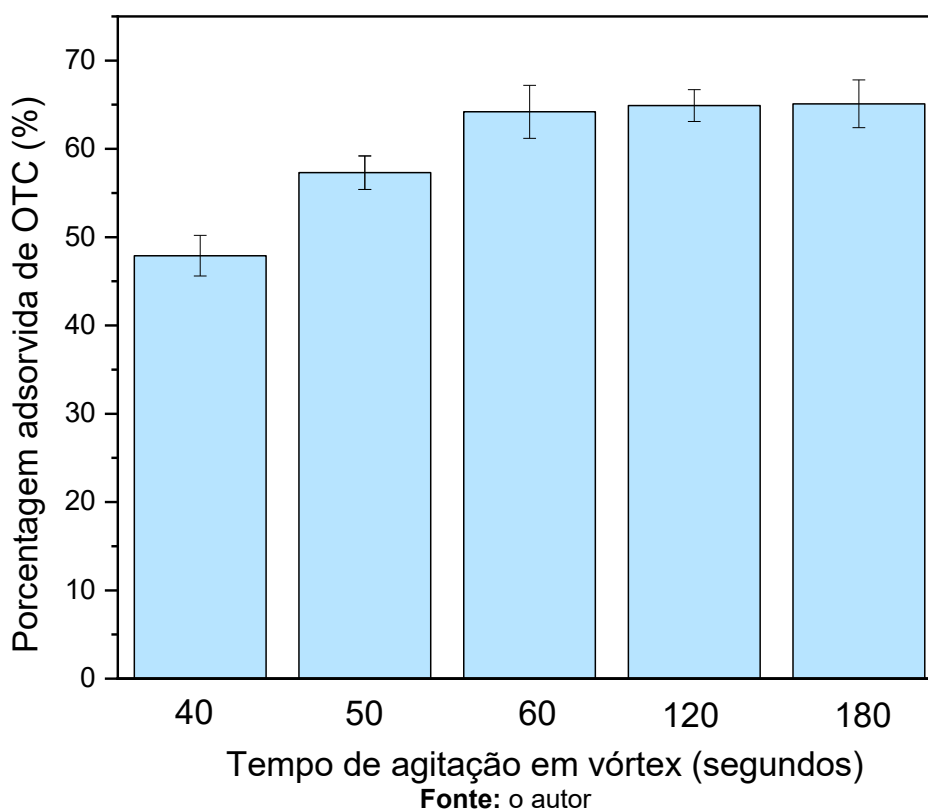
Fonte: o autor

Embora, esperava-se que o aumento da massa de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ proporcionasse uma maior adsorção do analito, observou-se que uma maior quantidade do material não demonstra uma maior eficiência na adsorção da OTC. Alguns estudos da literatura, como Nadali *et al.*, (2021), Madrakian *et al.*, (2013), e Ji *et al.*, (2018), relataram que o aumento de massa dos MIPs em seus estudos não aumentaram a quantidade de adsorção do material para o analito. Os estudos

apontam que o aumento da dosagem de massa do material adsorvente além da quantidade indicada, não aumenta a eficiência de pré-concentração do analito devido ao aglomeramento das partículas do material em solução.

Também avaliou-se a influência do tempo de vórtex no processo de adsorção da OTC, estudando os tempos de 40, 50, 60, 120 e 180 segundos de vórtex. Conforme observado na Figura 39, o percentual de adsorção da OTC pelo material não alterou com a variação do tempo de agitação à partir do tempo de 60 segundos, portanto para os estudos posteriores utilizou-se uma massa de 10 mg do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ e um tempo de agitação de 60 segundos em vórtex.

Figura 39. Influência do tempo de vórtex na adsorção da OTC pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$

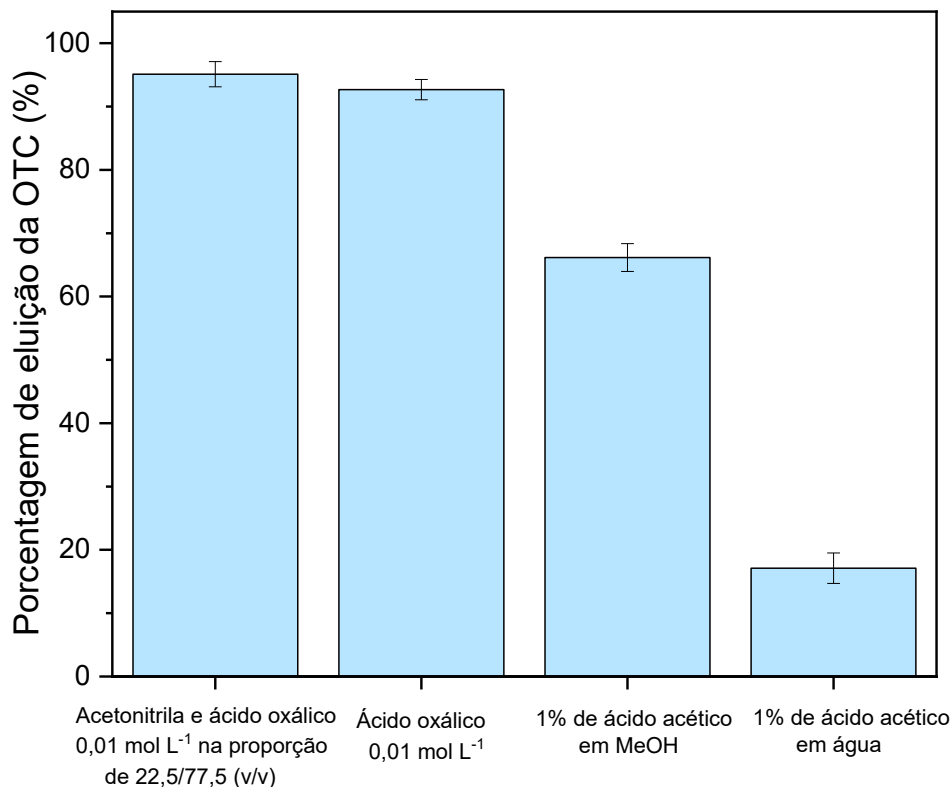


5.3.2 Influência da natureza e do volume do solvente de eluição

A seleção de um solvente adequado para dessorver os analitos do adsorvente é uma etapa importante na MDSPE. Portanto, para o estudo foram testados os solventes fase móvel (acetonitrila e ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ na proporção de 22,5/77,5 (v/v)), 1 % de ácido acético em metanol, 1 % de ácido acético em água e

ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados são apresentados na Figura 40.

Figura 40. Porcentagem de eluição da OTC pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em diferentes solventes



Fonte: o autor

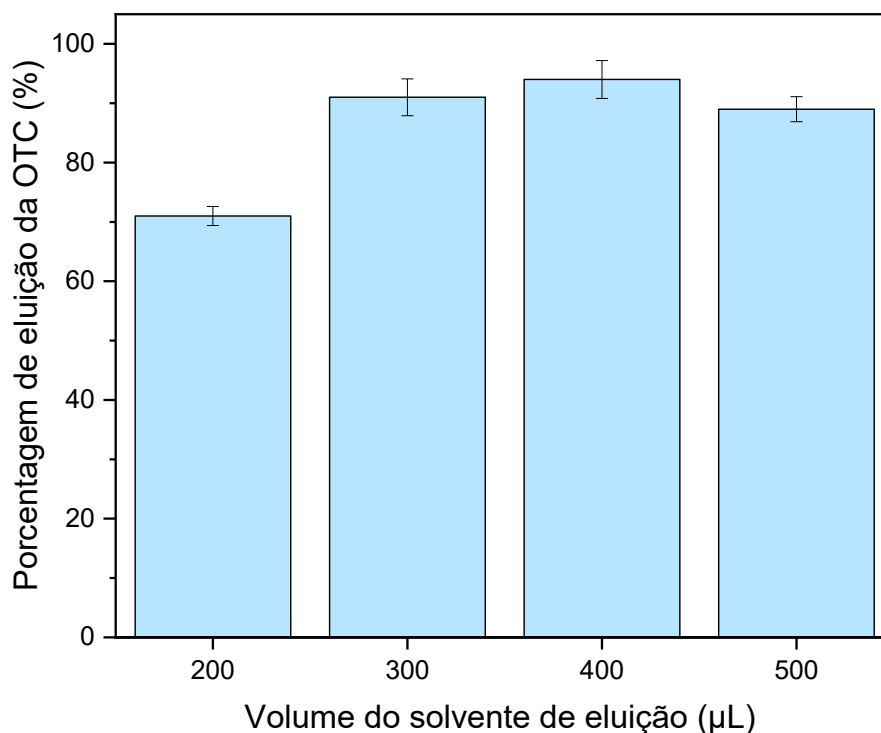
A melhor porcentagem de eluição do analito foi obtida com acetonitrila e ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ na proporção de 22,5/77,5 (v/v) (95,11 %), que corresponde a fase móvel utilizada nas determinações cromatográficas desse trabalho, seguida pelo ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (92,67 %), 1 % de ácido acético em metanol (66,17 %) e 1 % de ácido acético em água (17,11 %).

Como explicado nos estudos de efeito de pH na adsorção da OTC, o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ possui o NH_2 em sua superfície sendo que as moléculas de OTC interagem com o NH_2 através de ligações de hidrogênio, e em pH 4,0 tem-se a maior adsorção do analito. Presupõem-se que os solventes com características ácidas eluem mais satisfatoriamente o analito, pois atuam protonando a OTC que deixa de ter cargas negativas, interagindo muito menos com o adsorvente e sendo eluída em maior quantidade. Enquanto, para solventes com características básicas ocorre uma menor eluição pois não interfere na interação entre o polímero e o analito. Com porcentagens relativamente altas de eluição do analito em ambos os solventes, optou-se pelo uso

da fase móvel cromatográfica deste estudo (acetonitrila e ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ na proporção de 22,5/77,5 (v/v)) como solvente de eluição no método MDSPE.

Com os resultados obtidos avaliou-se a possibilidade de diminuir o volume do solvente de eluição. Para tanto, volumes entre 200 μL , 300 μL , 400 μL e 500 μL , conforme apresentado na Figura 41, foram estudados e observou-se que o volume de 400 μL eluiu uma porcentagem de 94 % do analito pela mistura de solventes acetonitrila e ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ na proporção de 22,5/77,5 (v/v). Assim, a melhor condição de eluição do método MDSPE com 400 μL de acetonitrila e ácido oxálico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ na proporção de 22,5/77,5 (v/v) foi adotada na sequência dos experimentos.

Figura 41. Influência do volume do solvente de eluição da OTC do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$



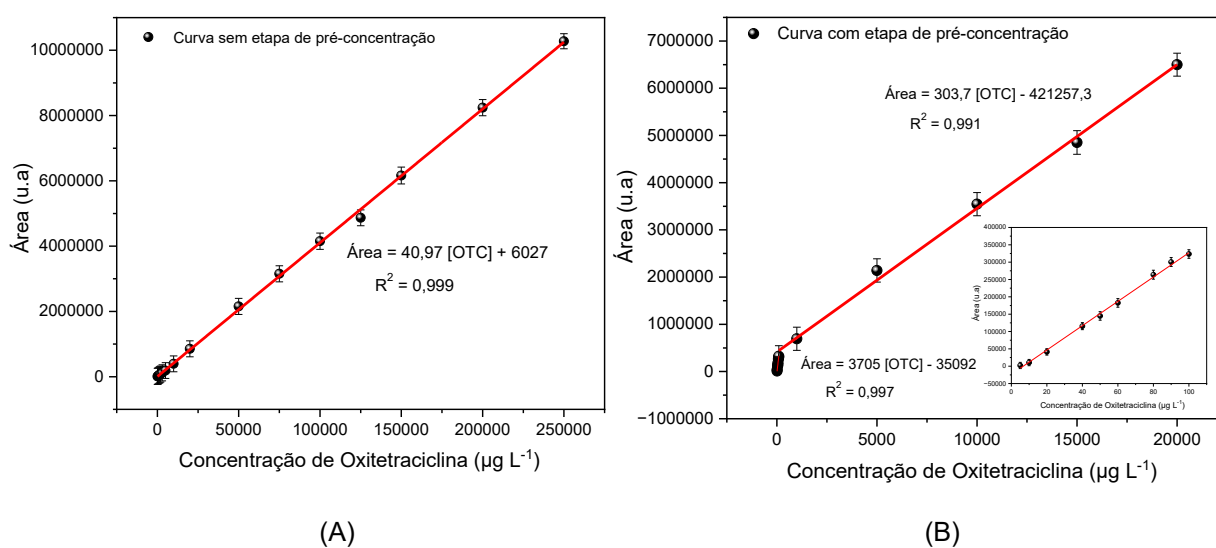
Fonte: o autor

5.3.3 Determinação dos parâmetros analíticos

A eficiência do método de extração e pré-concentração da OTC pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ foi avaliada pelo cálculo das figuras analíticas de mérito: limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), fator de pré-concentração (FPC), e precisão intra-dia e inter-dia. Os valores foram obtidos a partir de duas curvas analíticas, uma com a etapa de pré-concentração no $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ (com as condições de extração e

eluição otimizadas), na faixa de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ a $20,0 \text{mg L}^{-1}$. Outra sem etapa de pré-concentração (as soluções de padrões de OTC foram injetadas diretamente no cromatógrafo), na faixa de $0,1$ a $250,0 \text{mg L}^{-1}$. As curvas analíticas são apresentadas na Figura 42.

Figura 42. Curvas analíticas sem a etapa de pré-concentração (A) e com a etapa de pré-concentração (B)



Fonte: o autor

Para a curva analítica sem a etapa de pré-concentração, obteve-se a equação $y = 40,97x - 6027$ ($R^2 = 0,999$). A curva analítica com a etapa de pré-concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ a $20,0 \text{mg L}^{-1}$ apresentou duas regiões de inclinação. A primeira inclinação é representada pela equação $y = 3705x + 35092$ ($R^2 = 0,997$) e compreende a faixa linear de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ a $100 \mu\text{g L}^{-1}$. A segunda inclinação compreende a faixa de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ a $20,0 \text{mg L}^{-1}$ e é representada pela equação $y = 303,7x - 421257,3$ ($R^2 = 0,991$). Com o intuito de aplicar o método MDSPE em amostras alimentícias e a ocorrência das TCs em concentrações muito baixas, a faixa linear adotada para a análise dos parâmetros analíticos corresponde a primeira inclinação da curva analítica.

Com base nos modelos de regressão das curvas analíticas, o fator de pré-concentração (FPC) para o método foi determinado pelo quociente entre os coeficientes angulares da curva analítica obtida pelo método MDSPE e os padrões injetados diretamente no sistema cromatográfico (sem etapa de pré-concentração). O fator de pré-concentração do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ foi 90,44 vezes quando comparado a injeção direta das soluções.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados de acordo com a IUPAC (Equações 17 e 18, respectivamente, descritas no Item 4.6.3). Obteve-se um LD de $0,26 \mu\text{g L}^{-1}$ e LQ de $0,89 \mu\text{g L}^{-1}$. A precisão do método foi avaliada em termos de precisão intradia por meio das análises ($n = 10$) das concentrações de OTC de 20 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$, obtendo desvios padrões relativos (DPR) de 1,49 % e 1,87 %, respectivamente. Ainda, a precisão interdia (dois dias consecutivos) com $n = 10$ foi avaliada para as mesmas concentrações usadas nas análises intradia, obtendo-se um DPR de 1,73 % e 2,39 %, nessa ordem.

Mediante a determinação do valor de LQ ($0,89 \mu\text{g L}^{-1}$), uma solução de OTC na concentração referente ao limite de quantificação foi preparada e realizado o procedimento de pré-concentração e extração com $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ sob condições otimizadas do estudo, visando avaliar o efeito do LQ teórico na curva de calibração. Este procedimento permitiu inferir que o LQ é confiável, dado que, o modelo linear da curva analítica foi mantido.

A qualidade do ajuste dos dados experimentais obtidos a partir das curvas analíticas, foi avaliada por meio de análise de variância (ANOVA) em nível de confiança de 95 %, permitindo inferir que não há falta de ajuste entre os valores previstos pelo modelo em termos de concentrações e os valores observados, pois em todas as curvas, o $F_{\text{calculado}}$ (MQfalta de ajuste/MQerro puro) foi menor que o F_{tabelado} sendo: $F_{\text{calculado}} = 2,16 < F_{\text{tabelado}} = 4,41$ para a curva pré concentrando de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ a $100 \mu\text{g L}^{-1}$, para a curva de pré concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ a $20,0 \text{mg L}^{-1}$ - $F_{\text{calculado}} = 1,55 < F_{\text{tabelado}} = 4,74$, e para a curva sem pré-concentração $F_{\text{calculado}} 0,79 < F_{\text{tabelado}} = 4,14$. Os valores evidenciam a forte relação linear entre os pontos das curvas analíticas.

Na Tabela 11 são apresentados polímeros magnéticos molecularmente impressos com analito alvo OTC e detecção por HPLC-DAD com seus respectivos parâmetros analíticos a fim de comparar com os dados obtidos por este trabalho.

Tabela 11. Comparação de parâmetros analíticos para determinação de OTC utilizando diferentes MIPs magnéticos e determinação por HPLC-DAD

Adsorvente	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	VP (mL)	Referência
MIMMs	-	7,4	24,7	24,0	Lv <i>et al.</i> , 2013.
MIMM	-	5,71	19,02	25,0	Li <i>et al.</i> , 2014.
DA+BSA-MMIPs	5,0 a 500	1,09	3,87	20,0	Xu <i>et al.</i> , 2018.
MD- μ -SPE	100 a 10000	30	100	1,0	Cherkashina <i>et al.</i> , 2020.
Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	0,89 a 100	0,26	0,89	40,0	Este trabalho

MD- μ -SPE: Nanopartículas magnéticas revestidas com surfactantes para extração em fase sólida dispersiva magnética; DA+BSA-MMIPs: Nanomateriais magnéticos impressos de monômero bifuncional; Fe₃O₄@SiO₂@FeO: nanocompósito magnético multifuncional; MIMM: Microesfera magnética de impressão molecular; MIMMs; Microesferas magnéticas impressas por polimerização em suspensão;

Pode-se inferir que o método de pré-concentração e extração proposto, fazendo uso do Fe₃O₄/SiO₂/MIP como adsorvente, apresenta valores de LD e LQ satisfatórios, estando abaixo da faixa reportada na literatura, fator de pré-concentração alto e precisão das medidas analíticas, características úteis para a aplicação em amostras que tenham concentrações baixas ou então, em diluições de amostras com elevadas quantidades de OTC.

5.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL E DE LEITE

O método MDSPE proposto utilizando o Fe₃O₄/SiO₂/MIP foi avaliado na aplicação para extração de resíduos de OTC em amostras de águas superficiais do lago do Iguapó e os resultados estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Aplicação do método de pré-concentração em MDSPE para análise de resíduos de OTC em amostras superficiais (n = 3)

Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
0,0	ND	ND
12,0	11,8 \pm 0,1	98,0
20,0	19,7 \pm 0,1	98,0

ND: não detectável.

Fonte: o autor

Os ensaios demonstraram que a água coletada não apresentou resíduos de OTC dentro dos parâmetros analíticos do método. A amostra de água, foi submetida a ensaios de adição e recuperação, sendo fortificada com quantidades de OTC conhecidas, permitindo obter porcentagens de recuperação de 98,0 %, indicando que o material adsorvente pode ser utilizado com eficácia na determinação de resíduos de OTC em amostras de água superficial.

A aplicabilidade do método proposto em amostras de leite bovino também foi averiguada. Diferentes marcas, denominadas A, B (leite integral) e C (leite desnatado) foram submetidas ao método MDSPE e os resultados são apresentados na Tabela 13. As amostras passaram pelo processo de precipitação de proteínas e extração do analito com tampão McIlvaive 0,1 mol L⁻¹ em pH 4,0. Para as amostras B e C realizou-se um teste de adição e recuperação, com a intenção de verificar a exatidão do método.

Tabela 13. Concentração de OTC encontrada em três diferentes marcas de leite UHT bovino (n = 3)

Leite bovino	Concentração adicionada (µg L ⁻¹)	Concentração obtida (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)
A	ND	ND	ND
B	ND	ND	ND
	20,0	18,8 ± 0,9	94,0
	40,0	37,7 ± 1,3	94,0
C	ND	ND	ND
	25,0	24,6 ± 0,3	97,0
	50,0	49,8 ± 0,1	99,0

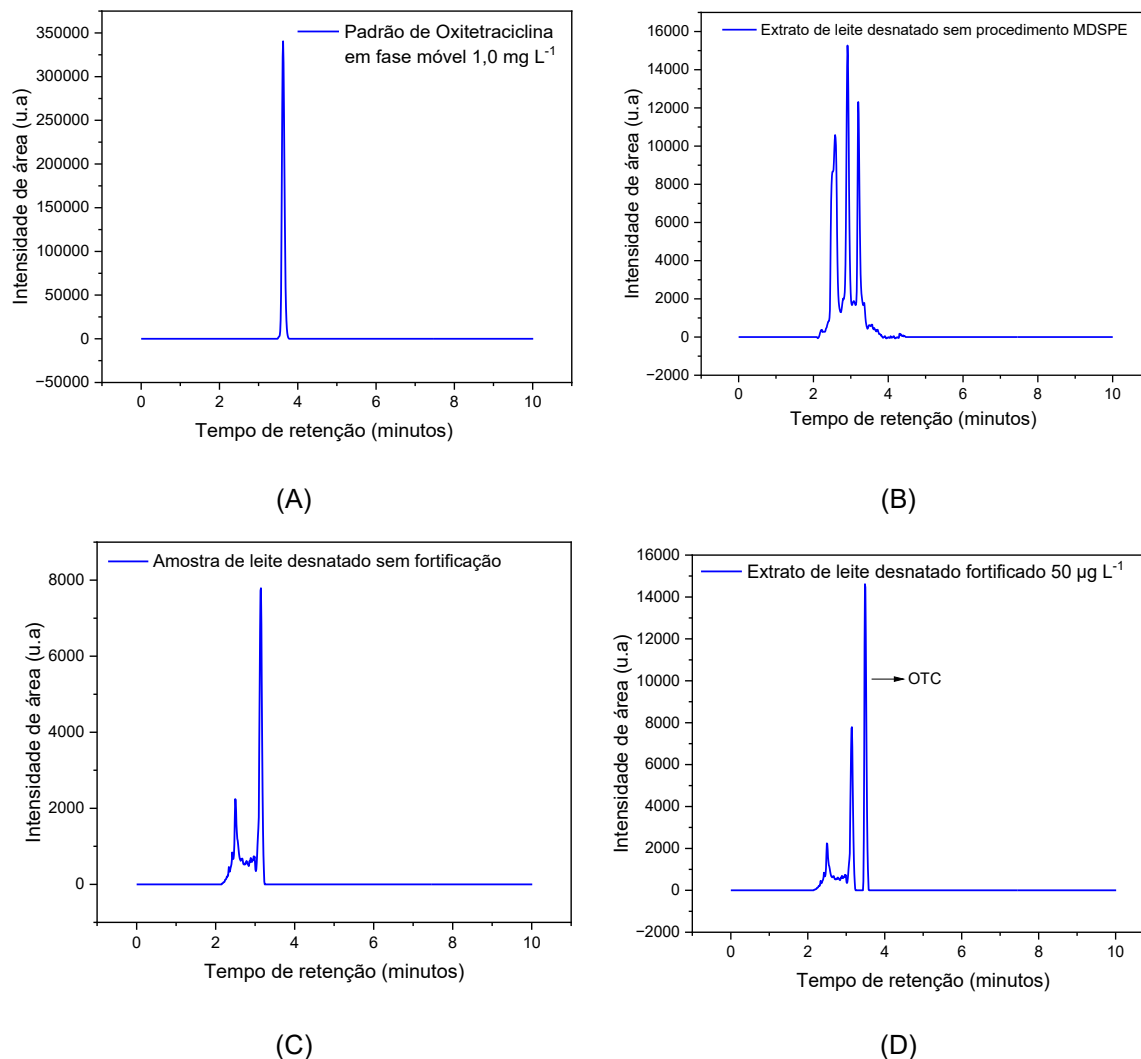
ND: não detectável.

Fonte: o autor

Os cromatogramas obtidos para a injeção no sistema cromatográfico de um padrão de OTC em fase móvel e injeção do extrato da amostra, são apresentados na Figura 43. Observa-se que o no tempo de retenção do analito OTC, o extrato de leite não apresentou nenhum sinal analítico que interfira na determinação e quantificação da OTC. As recuperações obtidas (94,0 - 99,0 %) indicam a ausência de efeitos de matriz na análise e alto potencial para a determinação de interferência livre de OTC em amostras reais. Observa-se que as amostras após serem submetidas ao procedimento MDSPE apresentam menos interferentes que as amostras sem o

procedimento MDSPE, indicando que o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ também proporciona uma limpeza da amostra, com cromatogramas com melhor resolução.

Figura 43. Cromatogramas de aplicação do método MDSPE



- A) Cromatograma da injeção de um padrão de OTC em fase móvel; B) Cromatograma do extrato de leite sem procedimento MDSPE; C) Cromatograma do extrato de leite após procedimento MDSPE; D) Cromatograma após procedimento MDSPE com amostra fortificada.

Fonte: o autor

O método aqui descrito mostrou-se fácil e rápido na determinação de OTC em amostras de leite bovino fazendo uso de pequena massa de material adsorvente e com tempo de extração rápido. O uso de um material com propriedade magnética facilitou o processo de separação da fase extratora da fase líquida, aproximando um campo magnético externo, sem necessidade de uma etapa de centrifugação.

5.5 AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE E DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS FRENTE AOS ANÁLOGOS ESTRUTURAIS DAS TCs

5.5.1 Avaliação da seletividade

Os coeficientes de distribuição (K_d), seletividade (k) e seletividade relativa (k') foram obtidos a partir das soluções binárias de TC: molécula interferente dos análogos estruturais (Figura 1) e os dados estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Parâmetros relacionados à seletividade para OTC e análogos estruturais

Mistura Binária	Polímero	Kd		k	k'
		OTC	M.I		
OTC:TC	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	1198,46	446,64	2,35	1,68
	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	286,49	202,57	1,39	
OTC:CTC	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	233,20	10,12	23,05	1,19
	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	55,17	2,85	19,37	
OTC:DC	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /MIP	417,55	159,66	2,61	1,14
	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ /NIP	344,65	150,61	2,28	

Fonte: o autor

Para os análogos estruturais da OTC - TC, CTC e DC - observa-se os valores de k' muito próximo de 1,0. Tais resultados podem ser explicados devido à similaridade estrutural entre as moléculas, exceto pelos radicais adjacentes que diferem as TCs entre si.

Como já discutido na avaliação do efeito de impressão química a moléculas interferentes, no item 5.2.3, a ligação covalente formada pelo complexo OTC-ICPTES durante a etapa de síntese, garante ao Fe₃O₄/SiO₂/MIP a preservação das cavidades do *template* em tamanho e forma. Desta forma, pode-se inferir que o Fe₃O₄/SiO₂/MIP apresenta efeito de impressão para a OTC, bem como para seus análogos estruturais da família das TCs (TC, CTC e DC), uma vez que as demais moléculas possuem uma estrutura química muito semelhante e se ligam ao adsorvente por ligações de hidrogênio com o grupo NH₂.

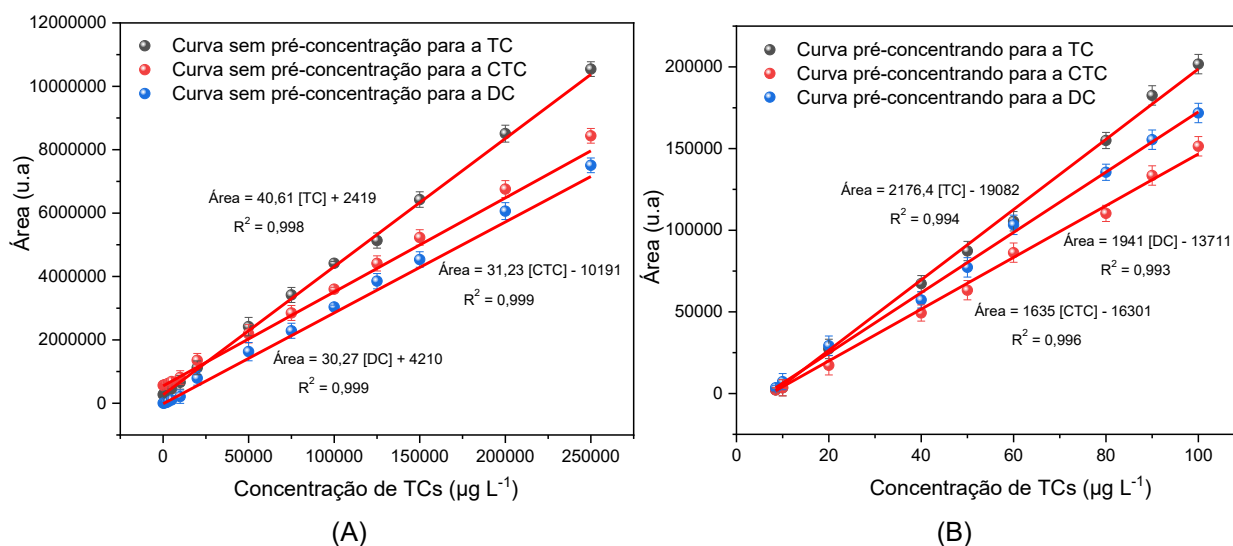
Tais resultados indicam que os sítios seletivos da superfície são complementares em forma, tamanho e distribuição espacial as moléculas de TCs. Essa é uma característica comum para polímeros molecularmente impressos para

TCs, devido à forte semelhança no arranjo dos grupos funcionais e do tamanho tridimensional dessas moléculas (CHEN *et al.*, 2009; DAI *et al.*, 2012; DAI *et al.* 2014; GAO *et al.*, 2020).

5.5.2 Parâmetros analíticos para os análogos estruturais

A eficiência do método de extração e pré-concentração das demais TCs pelo $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ foi avaliada pelo cálculo das figuras analíticas de mérito: LD e LQ, FPC, e precisão intra-dia e inter-dia. Os valores foram obtidos a partir de duas curvas analíticas, uma com a etapa de pré-concentração no $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ (com as condições de extração e eluição otimizadas), na faixa de 5,0 à 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Outra sem etapa de pré-concentração (as soluções de padrões de OTC foram injetadas diretamente no cromatógrafo), na faixa de 0,1 a 250,0 mg L^{-1} . As curvas analíticas são apresentadas nas Figuras 44.

Figura 44. Curvas analíticas sem a etapa de pré-concentração (A) e com a etapa de pré-concentração (B)



Fonte: o autor

Com base nos modelos de regressão das curvas analíticas, o fator de pré-concentração, LD e LQ foram determinados. Mediante a determinação do valor de LQ para as demais TCs, uma solução de na concentração referente ao limite de quantificação foi preparada e realizado o procedimento de pré-concentração e extração com $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ sob condições otimizadas do estudo, visando avaliar o efeito do

LQ teórico na curva de calibração. Este procedimento permitiu inferir que o LQ é confiável, dado que, o modelo linear da curva analítica foi mantido. Os dados estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 15. Parâmetros analíticos do método MDSPE para os demais análogos estruturais das TCs

TCs	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação	FPC	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
TC	1,52 - 100,0	$y = 2176,4x - 19082$ $R^2 = 0,994$	53,6	0,45	1,52
CTC	2,02 - 100,0	$y = 1635x - 16301$ $R^2 = 0,996$	52,3	0,60	2,02
DC	1,70 - 100,0	$y = 1941x - 13711$ $R^2 = 0,993$	64,1	0,51	1,70

Fonte: o autor

A precisão do método foi avaliada em termos de precisão intradia por meio das análises ($n = 10$) das concentrações de TCs de 20 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Ainda, a precisão interdia (dois dias consecutivos) com $n = 10$ foi avaliada para as mesmas concentrações usadas nas análises intradia. Os valores estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16. Precisão do método MDSPE para os análogos estruturais das TCs

Precisão	TC (%)	CTC (%)	DC (%)
Intradia 20 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,29	3,02	3,08
Intradia 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,43	1,13	1,09
Interdia 20 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,06	1,44	2,72
Interdia 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,32	1,91	1,01

Fonte: o autor

A qualidade do ajuste dos dados experimentais obtidos a partir das curvas analíticas, foi avaliada por meio de análise de variância (ANOVA) em nível de confiança de 95 %, permitindo inferir que não há falta de ajuste entre os valores previstos pelo modelo em termos de concentrações e os valores observados, pois em todas as curvas, o $F_{\text{calculado}}$ ($MQ_{\text{falta de ajuste}}/MQ_{\text{erro puro}}$) foi menor que o F_{tabelado} sendo:

- $F_{\text{calculado}} = 1,08 < F_{\text{tabelado}} = 2,57$ para a curva pré concentrando, e para a curva sem pré-concentração $F_{\text{calculado}} 0,81 < F_{\text{tabelado}} = 2,01$ para a TC;
- $F_{\text{calculado}} = 1,22 < F_{\text{tabelado}} = 2,51$ para a curva pré-concentrando, e para a curva sem pré-concentração $F_{\text{calculado}} 0,80 < F_{\text{tabelado}} = 1,91$ para a CTC;
- $F_{\text{calculado}} = 1,09 < F_{\text{tabelado}} = 2,57$ para a curva pré-concentrando, e para a curva sem pré-concentração $F_{\text{calculado}} 0,99 < F_{\text{tabelado}} = 2,1$, para a DC.

Os valores evidenciam a forte relação linear entre os pontos das curvas analíticas.

5.5.3 Aplicação do método MDSPE para as TCs em amostras de leite

A aplicabilidade do método proposto para as TCs em amostras de leite bovino foi averiguada em diferentes amostras de leite denominadas A e B, divididas em leite integral, leite semi-desnatado e leite desnatado. Estas foram submetidas ao método MDSPE e os resultados são apresentados na Tabela 17 e 18. As amostras passaram pelo processo de precipitação de proteínas com tampão McIlvaive $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 4,0. Realizou-se testes de adição e recuperação, com a intenção de verificar a exatidão do método.

Tabela 17. Concentração de TCs encontrada em três diferentes amostras de leite UHT bovino da marca A (n = 3)

Leite bovino integral			
	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
OTC	ND	ND	ND
	25,0	24,4 \pm 1,7	98,0
	35,0	34,9 \pm 0,3	99,0
TC	ND	ND	ND
	25,0	24,4 \pm 1,4	97,0
	35,0	34,1 \pm 0,9	97,0
CTC	ND	ND	ND
	25,0	24,9 \pm 1,2	99,0
	35,0	34,9 \pm 0,7	99,0
DC	ND	ND	ND
	25,0	24,5 \pm 1,3	98,0
	35,0	34,6 \pm 0,7	99,0
Leite bovino Semi-desnatado			
OTC	ND	ND	ND
	25,0	24,8 \pm 0,9	99,0
	35,0	35,0 \pm 1,1	100,0
TC	ND	ND	ND
	25,0	24,0 \pm 1,3	96,0
	35,0	34,7 \pm 0,8	99,0
CTC	ND	ND	ND
	25,0	24,7 \pm 1,4	99,0
	35,0	34,8 \pm 0,8	99,0
DC	ND	ND	ND
	25,0	24,8 \pm 1,2	99,0
	35,0	34,8 \pm 0,7	99,0
Leite bovino Desnatado			
OTC	ND	ND	ND
	25,0	24,3 \pm 1,0	97,0
	35,0	34,8 \pm 0,8	99,0
TC	ND	ND	ND
	25,0	25,5 \pm 1,3	102,0
	35,0	34,5 \pm 0,9	99,0
CTC	ND	ND	ND
	25,0	24,8 \pm 1,1	99,0
	35,0	34,5 \pm 0,5	98,0
DC	ND	ND	ND
	25,0	24,6 \pm 0,7	99,0
	35,0	34,9 \pm 0,8	100,0

ND: não detectável

Fonte: o autor

Tabela 18. Concentração de TCs encontrada em três diferentes amostras de leite UHT bovino da marca B (n = 3)

Leite bovino integral			
	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
OTC	ND	ND	ND
	25,0	$24,7 \pm 1,1$	99,0
	35,0	$34,9 \pm 1,7$	100,0
TC	ND	ND	ND
	25,0	$24,4 \pm 1,3$	97,0
	35,0	$35,1 \pm 0,8$	100,0
CTC	ND	ND	ND
	25,0	$24,7 \pm 0,9$	99,0
	35,0	$34,7 \pm 0,7$	99,0
DC	ND	ND	ND
	25,0	$25,7 \pm 0,9$	102,0
	35,0	$34,3 \pm 1,4$	98,0
Leite bovino Semi-desnatado			
OTC	ND	ND	ND
	25,0	$24,6 \pm 1,7$	97,0
	35,0	$34,3 \pm 0,8$	98,0
TC	ND	ND	ND
	25,0	$24,4 \pm 1,2$	97,0
	35,0	$34,2 \pm 0,7$	98,0
CTC	ND	ND	ND
	25,0	$25,1 \pm 0,9$	100,0
	35,0	$33,2 \pm 1,8$	95,0
DC	ND	ND	ND
	25,0	$24,4 \pm 0,9$	98,0
	35,0	$35,8 \pm 1,0$	102,0
Leite bovino Desnatado			
OTC	ND	ND	ND
	25,0	$24,5 \pm 0,8$	98,0
	35,0	$35,1 \pm 1,2$	100,0
TC	ND	ND	ND
	25,0	$24,5 \pm 1,4$	98,0
	35,0	$35,0 \pm 1,5$	100,0
CTC	ND	ND	ND
	25,0	$24,9 \pm 0,9$	99,0
	35,0	$35,0 \pm 1,4$	100,0
DC	ND	ND	ND
	25,0	$24,1 \pm 0,9$	96,0
	35,0	$34,6 \pm 0,8$	99,0

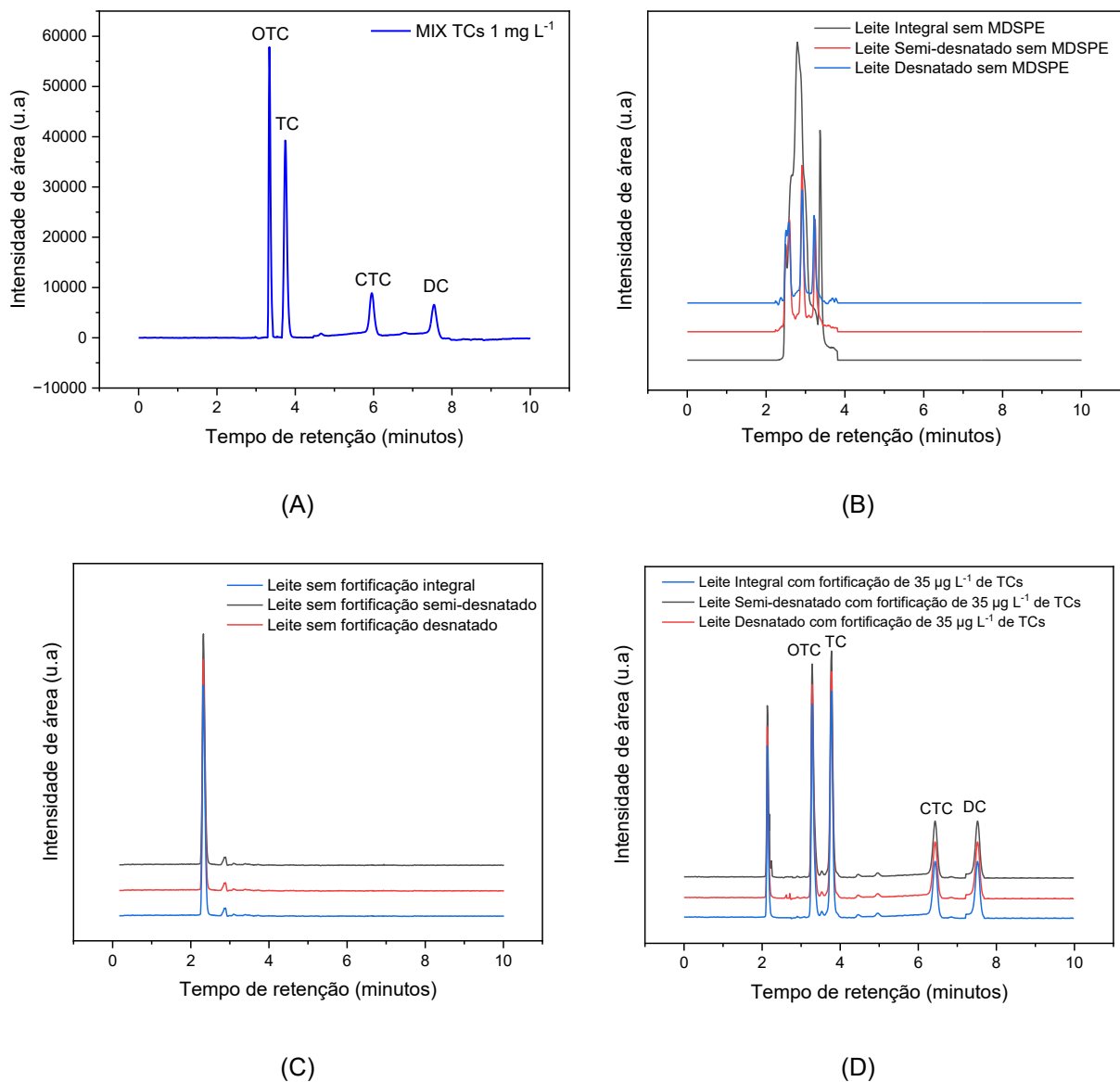
ND: não detectável

Fonte: o autor

Os cromatogramas obtidos para a injeção no sistema cromatográfico de um padrão de TCs em fase móvel e injeção do extrato da amostra, são apresentados na Figura 45. Observa-se que o no tempo de retenção das TCs, o extrato de leite não

apresentou nenhum sinal analítico que interfira na determinação e quantificação dos analitos. As recuperações obtidas (96,0 - 102,0 %) indicam a ausência de efeitos de matriz na análise e potencial para a determinação de interferência livre de TCs em amostras de leite. As amostras após serem submetidas ao procedimento MDSPE apresentam menos interferentes que as amostras sem o procedimento MDSPE, indicando que o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ também proporciona uma limpeza da amostra, com cromatogramas com melhor resolução.

Figura 45. Aplicação do método MDSPE em amostras de leite para TCs



(a) Cromatograma da injeção de padrão de TCs em fase móvel; (b) Cromatograma do extrato de leite sem procedimento MDSPE; (c) Cromatograma do extrato de leite após procedimento MDSPE; (d) Cromatograma após procedimento MDSPE com amostra fortificada com 35 µg L⁻¹.

Fonte: o autor

A aplicação do método MDSPE com o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em amostras de leite UHT integral, semi-desnatado e desnatado sem interferentes da matriz nos sinais analíticos das TCs analisadas, mostra-se uma alternativa eficiente e satisfatória para extração e detecção de compostos da família das TCs. Assim, o método desenvolvido com um novo polímero magnético molecularmente impresso apresentou um material adsorvente seletivo para ser aplicado em procedimentos MDSPE para determinação de TCs em diversas amostras.

6. CONCLUSÃO

A síntese semi-covalente de um polímero magnético molecularmente impresso para a molécula de oxitetraciclina proposto neste trabalho foi avaliada com técnicas de caracterização e seu emprego no desenvolvimento do método de extração em fase sólida magnética dispersiva. O $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ mostrou-se uma alternativa de detecção para determinação de TCs, uma vez que possibilitou uma análise rápida e com boa frequência analítica dos analitos em amostras alimentícias.

A caracterização dos materiais sintetizados por diferentes técnicas comprovou a eficácia da síntese do polímero molecularmente impresso sobre o núcleo do óxido de ferro com proteção de sílica, bem como da síntese do polímero não impresso. Os grupos funcionais característicos do Fe_3O_4 foram observados nos espectros de infravermelho dos materiais subsequentes, bem como as características magnéticas que permaneceram inalteradas com o recobrimento e a polimerização na superfície, que foram comprovadas pelas análises de medidas de magnetização e difratometria de raios-X.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão mostraram que as partículas magnéticas se encontram dispersas na rede polimérica onde não foi obtida uma morfologia do tipo *core-shell*. Essa característica é importante para o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$, pois, embora não tenha havido formação de rede polimérica apenas na superfície da partícula, a quantidade de sítios de impressão química na rede polimérica formada no seio da solução proporcionou uma rápida separação da fase extratora com a fase líquida e com capacidade adsortiva satisfatória.

A caracterização dos materiais sintetizados permitiu inferir sobre a capacidade seletiva e adsortiva do $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ frente a molécula de OTC, confirmando posteriormente pelos estudos de adsorção e eluição que a interação entre a molécula de OTC ocorre por ligações de hidrogênio com o grupo amino do adsorvente.

O método MDSPE proporcionou satisfatórios parâmetros analíticos para TCs, incluindo baixos limite de detecção e quantificação e elevado fator de pré-concentração. A avaliação dos parâmetros analíticos para a molécula *template* OTC as para as demais TCs, demonstrou que o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ pode ser utilizado na determinação das TCs em amostras complexas e com concentrações baixas dos analitos.

As aplicações do método de MDSPE com o $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{MIP}$ em amostras de águas superficiais e de leite, exibiu bons resultados de determinação de resíduos de TCs. Desta forma, o material sintetizado proposto por este trabalho apresentou características consideradas satisfatórias para ser utilizado com um material adsorvente magnético com características seletivas devido ao polímero molecularmente impresso, podendo ser aplicado em procedimentos MDSPE para determinação de TCs em diversas amostras.

7. REFERÊNCIAS

ANVISA. Limites Máximos de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal. Documento de base para discussão regulatória, 2022.

ABDULGHANI, A. J.; JASIM, H. H.; HASSAN, A. S. Determination of tetracycline in pharmaceutical preparation by molecular and atomic absorption spectrophotometry and high performance liquid chromatography via complex formation with Au(III) and Hg(II) ions in solutions. **International Journal of Analytical Chemistry**, 2013.

AGWUH, K. N.; MACGOWAN, A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylicyclines. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, n. 2, p. 256–265, 2006.

AHMED, S. F. *et al.* Recent developments in physical, biological, chemical, and hybrid treatment techniques for removing emerging contaminants from wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, n. April, p. 125912, 2021.

ALAMRI, H. *et al.* Self-cleaning superhydrophobic epoxy coating based on fibrous silica-coated iron oxide magnetic nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 513, p. 349–356, 2018.

ALFAYA, A. A. S.; KUBOTA, L. T. A utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biossensores. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 835–841, 2002.

ANDRADE-EIROA, A. *et al.* Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 641–654, 2016.

ANDRASIK, S. J. New Organic/inorganic Hybrid Sol-gel Nanocomposite Materials For Raman Gain In Fiber Optics. n. 2004, p. 2004–2019, 2019.

ANSARI, S. Application of magnetic molecularly imprinted polymer as a versatile and highly selective tool in food and environmental analysis: Recent developments and trends. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 90, p. 89–106, 2017a.

ANSARI, S.; KARIMI, M. Recent configurations and progressive uses of magnetic molecularly imprinted polymers for drug analysis. **Talanta**, v. 167, n. February, p. 470–485, 2017.

ARASTEH, R. *et al.* Applied Surface Science Adsorption of 2-nitrophenol by multi-wall carbon nanotubes from aqueous solutions. **Applied Surface Science**, v. 256, n. 14, p. 4447–4455, 2010.

ARVAND, M.; ERFANIFAR, Z.; ARDAKI, M. S. A New Core@Shell Silica-Coated Magnetic Molecular Imprinted Nanoparticles for Selective Detection of Sunset Yellow in Food Samples. **Food Anal. Methods**, p. 2593–2606, 2017.

AZIZI, A.; BOTTARO, C. S. A critical review of molecularly imprinted polymers for the analysis of organic pollutants in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1614, p. 460603, 2020.

AZZOUZ, A. *et al.* Review of nanomaterials as sorbents in solid-phase extraction for environmental samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 108, p. 347–369, 2018.

- BARALLA, E. *et al.* An overview of antibiotics as emerging contaminants: Occurrence in bivalves as biomonitoring organisms. **Animals**, v. 11, n. 11, p. 1–17, 2021.
- BEDIN, K. C. *et al.* Bone char prepared by CO₂ atmosphere: Preparation optimization and adsorption studies of Remazol Brilliant Blue R. **Journal of Cleaner Production**, v. 161, p. 288–298, 2017.
- BELTRAN, A. *et al.* Molecularly-imprinted polymers: Useful sorbents for selective extractions. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 11, p. 1363–1375, 2010.
- BERGAMANN, C. P.; MACHADO, F. M. **Carbon Nanomaterials as Adsorbents for Environmental Analysis**. [s.l: s.n.]. v. 9781118496
- BOXALL, C.; KELSALL, G.; ZHANGG, Z. Photoelectrophoresis of colloidal iron oxides. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 92, n. 5, p. 791–802, 1996.
- BRAGA, L. R.; ROSA, A. A.; DIAS, A. C. B. Synthesis and characterization of molecularly imprinted silica mediated by Al for solid phase extraction of quercetin in Ginkgo biloba L. **Analytical Methods**, v. 6, n. 12, p. 4029–4037, 2014.
- BRUNO, F. *et al.* An original approach to determining traces of tetracycline antibiotics in milk and eggs by solid-phase extraction and liquid chromatography / mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom**, v. 16, p. 1365–1376, 2002.
- BURKE, V. *et al.* Occurrence of Antibiotics in Surface and Groundwater of a Drinking Water Catchment Area in Germany. **Water Environment Research**, v. 88, n. 7, p. 652–659, 2016.
- CACHO, C. *et al.* Semi-covalent imprinted polymer using propazine methacrylate as template molecule for the clean-up of triazines in soil and vegetable samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1114, n. 2, p. 255–262, 2006.
- CAI, W.; GUPTA, R. B. Molecularly-imprinted polymers selective for tetracycline binding. **Separation and Purification Technology**, v. 35, n. 3, p. 215–221, 2004.
- CAPRIOTTI, A. L. *et al.* Multiclass screening method based on solvent extraction and liquid chromatography – tandem mass spectrometry for the determination of antimicrobials and mycotoxins in egg. **Journal of Chromatography A**, v. 1268, p. 84–90, 2012.
- CARO, E. *et al.* Synthesis and application of an oxytetracycline imprinted polymer for the solid-phase extraction of tetracycline antibiotics. **Analytica Chimica Acta**, v. 552, n. 1–2, p. 81–86, 2005.
- CARSON, M. C.; NGOH, M. A.; HADLEY, S. W. Confirmation of multiple tetracycline residues in milk and oxytetracycline in shrimp by liquid chromatography-particle beam mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Biomedical Applications**, v. 712, n. 1–2, p. 113–128, 1998.
- CASARIN, J. *et al.* Poly(methacrylic acid)/SiO₂/Al₂O₃ based organic-inorganic hybrid adsorbent for adsorption of imazethapyr herbicide from aqueous medium. **Reactive and Functional Polymers**, v. 121, n. October, p. 101–109, 2017.
- CASTILLO-GARCÍA, M. L.; AGUILAR-CABALLOS, M. P.; GÓMEZ-HENS, A. A europium- and terbium-coated magnetic nanocomposite as sorbent in dispersive solid

phase extraction coupled with ultra-high performance liquid chromatography for antibiotic determination in meat samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1425, p. 73–80, 2015.

CHANG, J. *et al.* Adsorption of Tetracycline by Shrimp Shell Waste from Aqueous Solutions: Adsorption Isotherm, Kinetics Modeling, and Mechanism. **ACS Omega**, v. 5, n. 7, p. 3467–3477, 2020.

CHANG, L.; CHEN, S.; LI, X. Synthesis and properties of core-shell magnetic molecularly imprinted polymers. **Applied Surface Science**, v. 258, n. 17, p. 6660–6664, 2012.

CHEN, H. *et al.* Bio-Inspired Imprinting Materials for Biomedical Applications.pdf. **Advanced science**, v. 9, p. 1–38, 2022.

CHEN, L. *et al.* Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for the separation of tetracycline antibiotics from egg and tissue samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 18, p. 3710–3719, 2009.

CHEN, L. *et al.* Molecular imprinting: Perspectives and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 8, p. 2137–2211, 2016.

CHENG, G. *et al.* Dithizone modified magnetic nanoparticles for fast and selective solid phase extraction of trace elements in environmental and biological samples prior to their determination by ICP-OES. **Talanta**, v. 88, p. 507–515, 2012.

CHENG, N. *et al.* Adsorption of emerging contaminants from water and wastewater by modified biochar: A review. **Environmental Pollution**, 2021.

CHERKASHINA, K. *et al.* Talanta Effect of surfactant coating of Fe₃O₄ nanoparticles on magnetic dispersive micro-solid phase extraction of tetracyclines from human serum. **Talanta**, v. 214, n. November 2019, p. 120861, 2020.

CLAUSEN, D. N.; PIRES, I. M. R.; TARLEY, C. R. T. Improved selective cholesterol adsorption by molecularly imprinted poly(methacrylic acid)/silica (PMAA-SiO₂) hybrid material synthesized with different molar ratios. **Materials Science and Engineering C**, v. 44, p. 99–108, 2014.

COATES, J. **Interpretation of infrared spectra, A practical Approach**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2000a. v. 1

COLAÇO, R.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; GOMES, E. C. Poluição por resíduos contendo compostos farmacologicamente ativos: Aspectos ambientais, geração a partir dos esgotos domésticos e a situação do Brasil. **Revista de Ciências Farmacéuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 4, p. 539–548, 2014.

CUNHA, C. *et al.* Hybrid composites made of multiwalled carbon nanotubes functionalized with Fe₃O₄ nanoparticles for tissue engineering applications. **Nanotechnology**, v. 23, n. 46, 2012.

DAGHRIR, R.; DROGUI, P. Tetracycline antibiotics in the environment: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 11, n. 3, p. 209–227, 2013.

DAI, J. *et al.* Preparation of molecularly imprinted nanoparticles with superparamagnetic susceptibility through atom transfer radical emulsion polymerization for the selective recognition of tetracycline from aqueous medium.

Journal of Hazardous Materials, v. 205–206, p. 179–188, 2012a.

DAI, J.; ZHOU, Z.; *et al.* Versatile Method To Obtain Homogeneous Imprinted Polymer Thin Film at Surface of Superparamagnetic Nanoparticles for Tetracycline Binding. 2014.

DAI, J.; WEI, X.; *et al.* Highly-controllable imprinted polymer nanoshell at the surface of magnetic halloysite nanotubes for selective recognition and rapid adsorption of tetracycline. **RSC Advances**, v. 4, n. 16, p. 7967–7978, 2014.

DAI, Y. *et al.* A review on pollution situation and treatment methods of tetracycline in groundwater. **Separation Science and Technology (Philadelphia)**, v. 55, n. 5, p. 1005–1021, 2020.

DENG, Q.; WANG, S. Molecularly imprinted polymers (MIPs) – an emerging technique for chemical hazard determination. **Food Chemical Hazard Detection: Development and Application of New Technologies**, v. 1, 2014.

DENG, W. J.; LI, N.; YING, G. G. Antibiotic distribution, risk assessment, and microbial diversity in river water and sediment in Hong Kong. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 40, n. 5, p. 2191–2203, 2018.

DINC, M.; ESEN, C.; MIZAIKOFF, B. Recent advances on core–shell magnetic molecularly imprinted polymers for biomacromolecules. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 114, p. 202–217, 2019.

DINIZ, K. M.; TARLEY, C. R. T. Speciation analysis of chromium in water samples through sequential combination of dispersive magnetic solid phase extraction using mesoporous amino-functionalized Fe₃O₄/SiO₂ nanoparticles and cloud point extraction. **Microchemical Journal**, v. 123, p. 185–195, 2015.

EFFTING, L. SÍNTESE , CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE NO DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE EXTRAÇÃO SÍNTESE , CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE POLÍMERO. **Dissertação de mestrado**, p. 112, 2020.

EFFTING, L. *et al.* Preparation of magnetic nanoparticle-cholesterol imprinted polymer using semi-covalent imprinting approach for ultra-effective and highly selective cholesterol adsorption. **Reactive and Functional Polymers**, v. 172, 2022.

ERDEM, S.; ÖZTEKIN, M.; SAĞ AÇIKEL, Y. Investigation of tetracycline removal from aqueous solutions using halloysite/chitosan nanocomposites and halloysite nanotubes/alginate hydrogel beads. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 16, n. August, p. 100576, 2021.

FAN, J. P. *et al.* Preparation, characterization, and application of multiple stimuli-responsive rattle-type magnetic hollow molecular imprinted poly (ionic liquids) nanospheres (Fe₃O₄@void@PILMIP) for specific recognition of protein. **Chemical Engineering Journal**, v. 337, n. December 2017, p. 722–732, 2018.

FENG, M. X. *et al.* Molecularly imprinted polymer-high performance liquid chromatography for the determination of tetracycline drugs in animal derived foods. **Food Control**, v. 69, p. 171–176, 2016a.

FRANCISQUINI, E.; SCHOENMAKER, J.; SOUZA, J. A. Nanopartículas Magnéticas e suas Aplicações. **Química Supramolecular e Nanotecnologia**, p. 269–289, 2015.

FRANQUI, L. S. *et al.* Synthesis and characterization of a magnetic molecularly imprinted polymer for the selective extraction of nicotine and cotinine from urine samples followed by GC-MS analysis. **Analytical Methods**, v. 7, n. 21, p. 9237–9244, 2015.

FRENICH, A. G. *et al.* Comparison of several extraction techniques for multiclass analysis of veterinary drugs in eggs using ultra-high pressure liquid chromatography – tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 661, p. 150–160, 2010.

GAO, R. *et al.* A highly-efficient imprinted magnetic nanoparticle for selective separation and detection of 17 β -estradiol in milk. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1040–1047, 2016.

GAO, W.; LI, J.; LI, P.; HUANG, Z.; CAO, Y.; LIU, X.; *et al.* Preparation of Magnetic Molecularly Imprinted Polymer (MMIP) Nanoparticles (NPs) for the Selective Extraction of Tetracycline from Milk Preparation of Magnetic Molecularly Imprinted Polymer (MMIP) Nanoparticles (NPs) for the Selective Extraction o. **Analytical Letters**, v. 53, n. 7, p. 1097–1112, 2020.

GHADIM, E. E. *et al.* Adsorption properties of tetracycline onto graphene oxide: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. 1–9, 2013.

GHOSH CHAUDHURI, R.; PARIA, S. Core/shell nanoparticles: Classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 4, p. 2373–2433, 2012.

GU, C.; KARTHIKEYAN, K. G. Interaction of tetracycline with aluminum and iron hydrous oxides. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 8, p. 2660–2667, abr. 2005.

GÜNEY, S.; GÜNEY, O. Development of an Electrochemical Sensor Based on Covalent Molecular Imprinting for Selective Determination of Bisphenol-A. **Electroanalysis**, v. 29, n. 11, p. 2579–2590, 2017.

HAULISAH, N. A. *et al.* High prevalence of antimicrobial resistance and multidrug resistance among bacterial isolates from diseased pets: Retrospective laboratory data (2015-2017). **PloS one**, v. 17, n. 12, p. e0277664, 2022.

HE, C. *et al.* Molecularly imprinted silica prepared with immiscible ionic liquid as solvent and porogen for selective recognition of testosterone. **Talanta**, v. 74, p. 1126–1131, 2008.

HELLER, D. N. *et al.* Development of Multiclass Methods for Drug Residues in Eggs : Hydrophilic Solid-Phase Extraction Cleanup and Liquid Chromatography / Tandem Mass Spectrometry Analysis of Tetracycline , Fluoroquinolone , Sulfonamide , and - Lactam Residues. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 5267–5278, 2006.

HU, X. *et al.* Preparation and evaluation of solid-phase microextraction fiber based on molecularly imprinted polymers for trace analysis of tetracyclines in complicated samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1188, n. 2, p. 97–107, 2009.

HUANG, Y. H. *et al.* Occurrence and distribution of antibiotics and antibiotic resistant genes in water and sediments of urban rivers with black-odor water in Guangzhou, South China. **Science of the Total Environment**, v. 670, p. 170–180, 2019.

IBARRA, I. S. *et al.* Magnetic solid phase extraction based on phenyl silica adsorbent

for the determination of tetracyclines in milk samples by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, 2011.

Jl, W.-H. *et al.* A water-compatible magnetic molecularly imprinted polymer for the selective extraction of risperidone and 9-hydroxyrisperidone from human urine. **Talanta**, v. 181, p. 392–400, 2018.

JIAO, S. *et al.* Aqueous oxytetracycline degradation and the toxicity change of degradation compounds in photoirradiation process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 7, p. 806–813, 2008.

JIN, X. *et al.* Direct photolysis of oxytetracycline: Influence of initial concentration, pH and temperature. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 332, p. 224–231, 2017.

JING, T. *et al.* Determination of trace tetracycline antibiotics in foodstuffs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with selective molecular-imprinted solid-phase extraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, n. 8, p. 2009–2018, 2009.

JUNG, B. M. *et al.* Molecularly imprinted mesoporous silica particles showing a rapid kinetic binding. **Chem. Commun**, p. 3699–3701, 2010.

KARAGEORGOU, E. *et al.* Ultrasound-assisted dispersive extraction for the high pressure liquid chromatographic determination of tetracyclines residues in milk with diode array detection. **Food Chemistry**, 2014.

KARIMI, M. A.; RANJBAR, M.; AKBARPOOR, M. Preparation of Magnetic Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles for Selective Adsorption and Separation of β -Estradiol. **Journal of Cluster Science**, v. 27, n. 3, p. 1067–1080, 2016.

KHOSROSHAHI, M. E.; GHAZANFARI, L. Synthesis and functionalization of SiO₂ coated Fe₃O₄ nanoparticles with amine groups based on self-assembly. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, n. 5, p. 1043–1049, 2012.

KI, C. DO *et al.* The use of a thermally reversible bond for molecular imprinting of silica spheres. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 50, p. 14838–14839, 2002.

KI, C. DO; CHANG, J. Y. Preparation of a molecularly imprinted polymeric nanocapsule with potential use in delivery applications. **Macromolecules**, v. 39, n. 9, p. 3415–3419, 2006.

KLEIN, E. Y. *et al.* Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 15, p. E3463–E3470, 2018.

KONG, J. *et al.* Preparation of magnetic mixed-templates molecularly imprinted polymer for the separation of tetracycline antibiotics from egg and honey samples. **Analytical Methods**, v. 4, n. 4, p. 1005–1011, 2012.

KUDR, J. *et al.* Magnetic nanoparticles: From design and synthesis to real world applications. **Nanomaterials**, v. 7, n. 9, 2017.

KULSHRESTHA, P.; GIESE, R. F.; AGA, D. S. Investigating the molecular interactions of oxytetracycline in clay and organic matter: Insights on factors affecting its mobility

- in soil. **Environmental Science and Technology**, v. 38, n. 15, p. 4097–4105, 2004.
- KUMAR, A.; PANDA, A. K.; SHARMA, N. Determination of antibiotic residues in bovine milk by HPLC-DAD and assessment of human health risks in Northwestern Himalayan region, India. **Journal of Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 95–104, 2022.
- KWAŚNIEWSKA, K.; GADZAŁA-KOPCIUCH, R.; CENDROWSKI, K. Critical Reviews in Analytical Chemistry Analytical Procedure for the Determination of Zearalenone in Environmental and Biological Samples Analytical Procedure for the Determination of Zearalenone in Environmental and Biological Samples. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 8347, 2015.
- LI, C. *et al.* Magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles-based solid-phase extraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry for selective determination of trace di-(2-ethylhexyl) phthalate in water samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 27, p. 7857–7864, 2016.
- LI, G.; HO, K. Applications of Magnetic Molecularly Imprinted Polymers (MMIPs) in the Separation and Purification Fields. **Chromatographia**, v. 81, n. 1, p. 73–88, 2018.
- LI, H. *et al.* Single-hole hollow molecularly imprinted polymer embedded carbon dot for fast detection of tetracycline in honey. **Talanta**, v. 185, n. January, p. 542–549, 2018.
- LI, N. *et al.* Preparation of core-shell magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles for recognition of bovine hemoglobin. **Chemistry - An Asian Journal**, v. 4, n. 2, p. 286–293, 2009.
- LI, N. *et al.* Magnetic dispersion extraction of tetracyclines residues from milk by chlortetracycline-imprinted magnetic composite microspheres. **Asian Journal of Chemistry**, v. 26, n. 12, p. 3535–3540, 2014.
- LI, P. *et al.* Adsorption characteristics of polythiophene for tetracyclines and determination of tetracyclines in fish and chicken manure by solid phase extraction-HPLC method. **Microchemical Journal**, v. 173, n. July 2021, p. 106935, 2022.
- LIMA, D. R. S. *et al.* Fármacos e desreguladores endócrinos em águas Brasileiras: Ocorrência e técnicas de remoção. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 1043–1054, 2017.
- LIMA, É. C.; ADEBAYO, M. A.; MACHADO, F. M. **Kinetic and equilibrium models of adsorption**. [s.l: s.n.]. v. 0
- LIU, S. *et al.* Occurrence and risk assessment of fluoroquinolones and tetracyclines in cultured fish from a coastal region of northern China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 8, p. 8035–8043, 2018.
- LIU, Y. *et al.* High-performance liquid chromatography using pressurized liquid extraction for the determination of seven tetracyclines in egg, fish and shrimp. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 917–918, p. 11–17, 2013.
- LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of Detection: A Closer Look at the IUPAC Definition. **Analytical Chemistry**, v. 55, n. 7, p. 712A-724A, 1983.
- LÜBKE, M.; WHITCOMBE, M. J.; VULFSON, E. N. A novel approach to the molecular imprinting of polychlorinated aromatic compounds. **Journal of the American**

Chemical Society, v. 120, n. 51, p. 13342–13348, 1998.

LV, Y. *et al.* Preparation of doxycycline-imprinted magnetic microspheres by inverse-emulsion suspension polymerization for magnetic dispersion extraction of tetracyclines from milk samples. **Journal of Separation Science**, p. 1–24, 2013.

LV, Y. K. *et al.* Determination of tetracyclines residues in egg, milk, and milk powder by online coupling of a precolumn packed with molecularly imprinted hybrid composite materials to RP-HPLC-UV. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 38, n. 1, p. 1–7, 2015.

MA, W. *et al.* Core-shell thermal-responsive and magnetic molecularly imprinted polymers based on mag-yeast for selective adsorption and controlled release of tetracycline. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 14, n. 1, p. 209–219, 2017.

MADRAKIAN, T. *et al.* Superparamagnetic surface molecularly imprinted nanoparticles for sensitive solid-phase extraction of tramadol from urine samples. **Talanta**, v. 105, p. 255–261, 2013.

MANYI-LOH, C. *et al.* **Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: Potential public health implications.** [s.l.: s.n.]. v. 23

MARFÀ, J. *et al.* Magnetic-molecularly imprinted polymers in electrochemical sensors and biosensors. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, p. 6141–6157, 2021.

MARINS COUTINHO, L. F. *et al.* Novel devices for solvent delivery and temperature programming designed for capillary liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 37, n. 15, p. 1903–1910, 2014.

MARTÍN-ESTEBAN, A. Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 45, n. 1, p. 169–181, 2013.

MARTÍNEZ, J. R. *et al.* Rietveld refinement of amorphous SiO₂ prepared via sol – gel method. v. 60, p. 3526–3529, 2006.

MAYES, A. G.; WHITCOMBE, M. J. Synthetic strategies for the generation of molecularly imprinted organic polymers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 12, p. 1742–1778, 2005.

MENDONÇA, E. S. D. T. DE *et al.* Effects of silica coating on the magnetic properties of magnetite nanoparticles. **Surfaces and Interfaces**, v. 14, n. June 2018, p. 34–43, 2019.

MENDONÇA, J. *et al.* Design and performance of novel molecularly imprinted biomimetic adsorbent for preconcentration of prostate cancer biomarker coupled to electrochemical determination by using multi-walled carbon nanotubes/Nafion®/Ni(OH)₂-modified screen-printed electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 878, 2020.

MIRZAEI, M. *et al.* Preparation and utilization of microporous molecularly imprinted polymer for sustained release of tetracycline. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 128, n. 3, p. 1557–1562, 2013.

MOHEBI, A. *et al.* Homogenous liquid–liquid extraction followed by dispersive liquid–

liquid microextraction for the extraction of some antibiotics from milk samples before their determination by HPLC. **Microchemical Journal**, v. 157, n. January, p. 104988, 2020.

MOOKANTSA, S. O. S.; DUBE, S.; NINDI, M. M. Development and application of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of tetracyclines in beef by liquid chromatography mass spectrometry. **Talanta**, v. 148, p. 321–328, 2016.

MOUDGIL, P. *et al.* Journal of Food Safety - 2019 - Moudgil - Analysis of antibiotic residues in raw and commercial milk in Punjab India vis-.pdf. **J Food Saf.**, p. 1–8, 2019.

MOUSSOUT, H. *et al.* Critical of linear and nonlinear equations of pseudo-first order and pseudo-second order kinetic models. **Karbala International Journal of Modern Science**, v. 4, n. 2, p. 244–254, 2018.

MU, G. *et al.* Matrix Solid-Phase Dispersion Extraction and Capillary Electrophoresis Determination of Tetracycline Residues in Milk. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 1, p. 148–153, 2012.

MUSTAFA, Y. L.; KEIROUZ, A.; LEESE, H. S. Molecularly imprinted polymers in diagnostics: accessing analytes in biofluids. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 10, n. 37, p. 7418–7449, 2022.

MYERS, H. M.; TOCHON-DANGUY, H. J.; BAUD, C. A. IR absorption spectrophotometric analysis of the complex formed by tetracycline and synthetic hydroxyapatite. **Calcified Tissue International**, v. 35, n. 1, p. 745–749, 1983.

NADALI, A. *et al.* Synthesize and application of magnetic molecularly imprinted polymers (mag-MIPs) to extract 1-Aminopyrene from the human urine sample. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 106253, 2021.

NASCIMENTO, T. A. DO; OLIVEIRA, H. L. DE; BORGES, K. B. Magnetic molecularly imprinted polypyrrole as a new selective adsorbent for pharmaceutically active compounds. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103371, 2019.

NI, X. *et al.* Silica-coated iron nanoparticles: Shape-controlled synthesis, magnetism and microwave absorption properties. **Materials Chemistry and Physics**, v. 120, n. 1, p. 206–212, 2010.

NIKOLAIDOU, K. I.; SAMANIDOU, V. F.; PAPADOYANNIS, I. N. Development and validation of an HPLC multi-residue method for the determination of seven tetracycline antibiotic residues in bovine liver and kidney according to the European union decision 2002/657/EC. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 31, n. 17, p. 2523–2540, 2008.

NIU, M.; PHAM-HUY, C.; HE, H. Core-shell nanoparticles coated with molecularly imprinted polymers: a review. **Microchimica Acta**, v. 183, n. 10, p. 2677–2695, 2016.

OLIVEIRA, F. M. DE. **Preparo, Caracterização E Aplicação De Um Novo Sorvente Baseado Em Polímero Molecularmente Impresso Com Acesso Restrito Para Extração De Ácido Fólico Em Amostras De Leite.** Dissertação de Mestrado, p. 103, 2015.

OLIVEIRA, F. M. DE; SEGATELLI, M. G.; TARLEY, C. R. T. Evaluation of a new water-

compatible hybrid molecularly imprinted polymer combined with restricted access for the selective recognition of folic acid in binding assays. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 21, p. 1–10, 2016.

OLIVEIRA, H. L. DE *et al.* Novel restricted access material combined to molecularly imprinted polymer for selective magnetic solid-phase extraction of estrogens from human urine. **Microchemical Journal**, v. 149, n. May, p. 104043, 2019.

OMUFEREN, L. O.; MASEKO, B.; OLOWOYO, J. O. Occurrence of antibiotics in wastewater from hospital and convectional wastewater treatment plants and their impact on the effluent receiving rivers: current knowledge between 2010 and 2019. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, n. 4, 2022.

PANG, Y. H. *et al.* Collaborative compounding of metal–organic frameworks for dispersive solid-phase extraction HPLC–MS/MS determination of tetracyclines in honey. **Food Chemistry**, v. 355, n. November 2020, p. 129411, 2021.

PENG, R. *et al.* An investigation of template anchoring strategy for molecularly imprinting materials based on nanomagnetic polyhedral oligomeric silsesquioxanes composites. **Journal of Chromatography A**, v. 1597, p. 28–38, 2019.

PEREIRA-MAIA, E. C. *et al.* Tetraciclina e gliciliclinas: uma visão geral. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 700–706, 2010.

PEREIRA, A. M. P. T. *et al.* Fluoroquinolones and Tetracycline Antibiotics in a Portuguese Aquaculture System and Aquatic Surroundings: Occurrence and Environmental Impact. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues**, v. 78, n. 15, p. 959–975, 2015.

PEREIRA, M. R. **Síntese de materiais molecularmente impressos para adsorção seletiva de gentamicina**, Tese de Doutorado, 2019.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, M. *et al.* An overview of the main foodstuff sample preparation technologies for tetracycline residue determination. **Talanta**, 2018.

PHOMAI, K. *et al.* One-pot co-extraction of dispersive solid phase extraction employing iron-tannic nanoparticles assisted cloud point extraction for the determination of tetracyclines by high-performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 252, n. August 2022, p. 123852, 2023.

PLAZINSKI, W.; RUDZINSKI, W.; PLAZINSKA, A. Theoretical models of sorption kinetics including a surface reaction mechanism: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 152, n. 1–2, p. 2–13, 2009.

PRADO, C. K.; MACHINSKI JUNIOR, M. Metodologia analítica para determinação de resíduos de tetraciclina em leite : uma revisão. **Rev. Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 4, p. 448–456, 2011.

PRETE, M. C.; TARLEY, C. R. T. Bisphenol A adsorption in aqueous medium by investigating organic and inorganic components of hybrid polymer (polyvinylpyridine/SiO₂/APTMS). **Chemical Engineering Journal**, v. 367, n. February, p. 102–114, 2019.

PUPIN, R. R. Síntese e aplicação de polímeros com impressão molecular (MIP) e uso de aptâmeros na construção de dispositivos de análise rápida do tipo fluxo lateral para determinação de tetraciclina. **Tese de doutorado**, p. 170, 2021.

QI, P. *et al.* Molecularly imprinted polymers synthesized via semi-covalent imprinting with sacrificial spacer for imprinting phenols. **Polymer**, v. 51, n. 23, p. 5417–5423, 2010.

RASHID, H. *et al.* Synthesis and characterization of magnetite nano particles with high selectivity using in-situ precipitation method. **Separation Science and Technology**, v. 55, n. 6, p. 1207–1215, 2020.

RIDGWAY, K.; LALLJIE, S. P. D.; SMITH, R. M. Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1153, n. 1–2, p. 36–53, 2007.

RODRIGUEZ, J. A. *et al.* Determination of tetracyclines in milk samples by magnetic solid phase extraction flow injection analysis. **Microchimica Acta**, v. 171, n. 3, p. 407–413, 2010.

SANTOS, M.; DUARTE, A. C.; ESTEVES, V. I. Development and application of a capillary electrophoresis based method for the simultaneous screening of six antibiotics in spiked milk samples. **Talanta**, v. 71, p. 731–737, 2007.

SARMA, G. K.; GUPTA, S. SEN; BHATTACHARYYA, K. G. Nanomaterials as versatile adsorbents for heavy metal ions in water: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 7, p. 6245–6278, 2019.

SCARIA, J.; ANUPAMA, K. V.; NIDHEESH, P. V. Tetracyclines in the environment: An overview on the occurrence, fate, toxicity, detection, removal methods, and sludge management. **Science of the Total Environment**, v. 771, p. 145291, 2021.

SCZESNY, S.; NAU, H.; HAMSCHER, G. Residue analysis of tetracyclines and their metabolites in eggs and in the environment by HPLC coupled with a microbiological assay and tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 697–703, 2003.

SERESHTI, H.; KARAMI, F.; NOURI, N. A green dispersive liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvents doped with β -cyclodextrin: Application for determination of tetracyclines in water samples. **Microchemical Journal**, v. 163, n. December 2020, p. 105914, 2021.

SERESSHTI, H. *et al.* Natural thymol-based ternary deep eutectic solvents Application in air-bubble.pdf. **J Sep Sci**, v. 44, p. 3626–3635, 2021.

SHARAFI, Z. *et al.* Synthesis of silica-coated iron oxide nanoparticles: Preventing aggregation without using additives or seed pretreatment. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 1, p. 386–395, 2018.

SILVA, A. *et al.* Extração em Fase Sólida Magnética (MSPE): Fundamentos e Aplicações. **Scientia Chromatographica**, v. 8, n. 4, p. 239–256, 2016.

SOCAS-RODRÍGUEZ, B. *et al.* Dispersive Solid-Phase Extraction. **Analytical Separation Science**, p. 1525–1570, 2015.

SODIPO, B. K.; AZIZ, A. A. Recent advances in synthesis and surface modification of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with silica. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 416, p. 275–291, 2016.

SONG, J. *et al.* Analytical Methods Ionic liquid dispersive liquid – liquid microextraction

combined with high performance liquid chromatography for determination of tetracycline. **Anal. Methods**, v. 6, p. 6459–6466, 2014.

SONG, Y. *et al.* Adsorption of oxytetracycline on kaolinite. **PLoS ONE**, v. 14, n. 11, p. 1–13, 2019.

SPELTINI, A. *et al.* Newest applications of molecularly imprinted polymers for extraction of contaminants from environmental and food matrices: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 974, p. 1–26, 2017.

SUEDEE, R. *et al.* Use of molecularly imprinted polymers from a mixture of tetracycline and its degradation products to produce affinity membranes for the removal of tetracycline from water. **Journal of Chromatography B**, v. 811, n. 2, p. 191–200, 2004.

SUN, X. *et al.* Determination of tetracyclines in food samples by molecularly imprinted monolithic column coupling with high performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 79, n. 3, p. 926–934, 2009.

TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; KUBOTA, L. T. Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 1: Preparo e aplicações de MIP em técnicas de extração e separação. **Quim. Nova**, v. 28, n. 6, p. 1076–1086, 2005.

TARLEY, T.; OLIVEIRA, F. M. DE; SEGATELLI, M. G. Evaluation of a new water-compatible hybrid molecularly imprinted polymer combined with restricted access for the selective recognition of folic acid in binding assays. **J. Appl. Polym. Sci.** v. 43463, p. 1–10, 2016.

THANASARAKHAN, W. *et al.* Sequential injection spectrophotometric determination of tetracycline antibiotics in pharmaceutical preparations and their residues in honey and milk samples using yttrium (III) and cationic surfactant. **Talanta**, v. 84, n. 5, p. 1401–1409, 2011.

THOMMES, M. *et al.* Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, n. 9–10, p. 1051–1069, 2015.

TRAN, N. H. *et al.* Emerging contaminants in wastewater, stormwater runoff, and surface water: Application as chemical markers for diffuse sources. **Science of the Total Environment**, 2019.

TRIVEDI, M. K. *et al.* Spectroscopic Characterization of Chloramphenicol and Tetracycline: An Impact of Biofield Treatment. **Pharmaceutica Analytica Acta**, OMICS v. 6, n. 7, p. 0–5, 2016.

VARGAS MAMANI, M. C.; REYES REYES, F. G.; RATH, S. Multiresidue determination of tetracyclines, sulphonamides and chloramphenicol in bovine milk using HPLC-DAD. **Food Chemistry**, v. 117, n. 3, p. 545–552, 2009.

WANG, L. *et al.* Molecularly imprinted polymers for gossypol via sol-gel, bulk, and surface layer imprinting-A comparative study. **Polymers**, v. 11, n. 4, 2019.

WANG, S.; YANG, P.; CHENG, Y. Analysis of tetracycline residues in bovine milk by CE-MS with field-amplified sample. **Electrophoresis**, v. 28, p. 4173–4179, 2007.

WANG, X. *et al.* A molecularly imprinted polymer-coated nanocomposite of magnetic

nanoparticles for estrone recognition. **Talanta**, v. 78, n. 2, p. 327–332, 2009.

WANG, Z. *et al.* Synthesis and characterization of a novel magnetic carrier with its composition of Fe₃O₄/carbon using hydrothermal reaction. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 302, n. 2, p. 397–404, 2006.

WEI, Z. H. *et al.* Imprinted monoliths: Recent significant progress in analysis field. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 86, p. 84–92, 2017.

WHITCOMBE, M. J. *et al.* A New Method for the Introduction of Recognition Site Functionality into Polymers Prepared by Molecular Imprinting: Synthesis and Characterization of Polymeric Receptors for Cholesterol. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, n. 27, p. 7105–7111, 1995.

WHO, W. H. O. 2018. **WHO Report on Surveillance of Antibiotic Consumption** . [s.l: s.n.].

WU, H. *et al.* Effects of the pH and anions on the adsorption of tetracycline on iron-montmorillonite. **Applied Clay Science**, v. 119, p. 161–169, 2016.

WU, W. *et al.* Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. **Science and Technology of Advanced Materials**, 2015.

WU, W.; HE, A. Q.; JIANG, A. C. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies. **Nanoscale Res Lett**, v. 3, p. 397–415, 2008.

XIE, L. *et al.* Efficient determination of protocatechuic acid in fruit juices by selective and rapid magnetic molecular imprinted solid phase extraction coupled with HPLC. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 32, p. 8221–8228, 2014.

XU, J. J. *et al.* Determination of Tetracycline Antibiotic Residues in Honey and Milk by Miniaturized Solid Phase Extraction Using Chitosan-Modified Graphitized Multiwalled Carbon Nanotubes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 12, p. 2647–2654, 2016.

XU, Y. *et al.* Bifunctional monomer magnetic imprinted nanomaterials for selective separation of tetracyclines directly from milk samples. **Journal of Colloid And Interface Science**, 2018.

YAKOUT, A. A.; EL-HADY, D. A. A combination of β -cyclodextrin functionalized magnetic graphene oxide nanoparticles with β -cyclodextrin-based sensor for highly sensitive and selective voltammetric determination of tetracycline and doxycycline in milk samples. **RSC Advances**, v. 6, n. 48, p. 41675–41686, 2016.

YANG, H. *et al.* Molecularly Imprinted Sol - Gel Nanotubes Membrane for Biochemical Separations. **J. AM. CHEM. SOC.**, v. 126, p. 4054–4055, 2004.

YANG, J. *et al.* Novel sponge-like molecularly imprinted mesoporous silica material for selective isolation of bisphenol A and its analogues from sediment extracts. **Analytica Chimica Acta**, v. 853, p. 311–319, 2015.

YU, Y.; FAN, Z. Determination of tetracyclines in bovine milk using laccaic acid-loaded magnetite nanocomposite for magnetic solid-phase extraction. **Journal of chromatographic science**, v. 55, n. 4, p. 484–490, 2017.

YUE LU; LEI LU; JINXING HE; TAO ZHAO; Preparation of hydrophilic molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber for the selective removal and extraction of trace tetracyclines residues in animal derived foods. **Journal of Separation Science**, p. 1–13, 2020.

ZEB, S. *et al.* Using magnetic nanoparticles_MIP-based electrochemical sensor for quantification of tetracycline in milk samples _ Leitor avançado da Elsevier.pdf. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 900, p. 115713, 2021.

ZHAN, J. *et al.* Preparation of a semicovalent, molecularly surface imprinted polymer for the rapid determination of trace acid orange II in food and environmental samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 19, p. 6353–6363, 2013.

ZHANG, L. *et al.* Studies on the removal of tetracycline by multi-walled carbon nanotubes. **Chemical Engineering Journal**, v. 178, p. 26–33, 2011.

ZHANG, Z.; BOXALL, C.; KELSALL, G. H. **Photoelectrophoresis of colloidal iron oxides 1. Hematite (α -Fe₂O₃)**. [s.l.] ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS LTD, 1993. v. 73

ZHAO, X. *et al.* Preparation of silica-magnetite nanoparticle mixed hemimicelle sorbents for extraction of several typical phenolic compounds from environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1188, n. 2, p. 140–147, 2008.

ZHI, S. *et al.* Systematic analysis of occurrence and variation tendency about 58 typical veterinary antibiotics during animal wastewater disposal processes in Tianjin, China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 165, n. September, p. 376–385, 2018.

ZHOU, Y. *et al.* Restricted access magnetic imprinted microspheres for directly selective extraction of tetracycline veterinary drugs from complex samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1613, 2020.