



**UnB**

**Universidade de Brasília**

**Instituto de Química**

**GABRIEL RODRIGUES MARTINS MOREIRA**

**COMPARAÇÃO DE MEMBRANAS ADSORVENTES PREPARADAS COM MIP  
HIBRIDO E HLB PARA EXTRAÇÃO DE SACARINA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**Brasília, DF**

**2021**

Gabriel Rodrigues Martins Moreira

**COMPARAÇÃO DE MEMBRANAS ADSORVENTES PREPARADAS COM MIP  
HIBRIDO E HLB PARA EXTRAÇÃO DE SACARINA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de bacharel em Química.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Cristi Basile Dias

Brasília, DF

2021

*Dedico a todos professores, amigos e familiares que torceram por mim e estiveram ao meu lado, em especial a minha mãe, Angela.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a minha mãe, Angela, por ter acreditado em mim e me apoiado sempre. Estendo este agradecimento a minha “quase” mãe, Juliana, e a seu marido, Eduardo, por terem me recebido durante a minha estadia em Brasília e por estarem sempre mostrando o melhor caminho para seguir.

Sou grato também às minhas orientadoras, professora Ana Cristi e a Maria Vitória, que me aceitaram e me receberam nesta minha jornada e que, sem dúvidas, são minhas inspirações profissionais. Quando deixamos nossa casa e saímos para aventuras mais longínquas, nós descobrimos o valor dos amigos e entendemos que o que faz nossa vida mais feliz e completa é poder dividir estes momentos. Assim agradeço aos presentes que Brasília me deu. São eles:

Meus amigos de graduação Henrique, Rafael e Yuri que torceram e sofreram ao meu lado;

Meus amigos Amanda, Hudson e Bruno que sempre estiveram comigo;

E aos chefes do Grupo Escoteiro Azimute 77 - 55° DF, que juntos do mesmo compromisso, buscamos diariamente estar Sempre Alerta para Servir o Melhor Possível!

Por fim, agradeço a D’us por me permitir chegar até aqui, conviver com pessoas maravilhosas e por me dar todos os dias a oportunidade de ser alguém melhor.

Rir é um ato de resistência

-Paulo Gustavo

I want to leave my footprints on the sands of time, know there was something that, something that I left behind. When I leave this world, I'll leave no regrets, leave something to remember, so they won't forget

-I was here – Beyoncé

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS .....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT .....	xi
1. DILIGÊNCIA DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2. ADOÇANTES SINTÉTICOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES	12
2.1. Adoçantes sintéticos .....	12
2.2. A sacarina como contaminante emergente .....	13
3. DETERMINAÇÃO DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS .....	15
3.1. Espectrometria no UV-Vis.....	15
3.2. Espectrofluorimetria .....	16
3.3. Cromatografia líquida de alta eficiência .....	17
4. TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO NO PREPARO DE AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO DE SACARINA .....	20
4.1. Extração em fase sólida .....	20
4.1.1. Polímeros molecularmente impressos.....	21
4.1.2. Extração por membranas.....	24
5. PROPOSTA DE MÉTODOS PROPOSTOS PARA REALIZAÇÃO FUTURA	27
5.1. Proposta de confecção de membranas molecularmente impressas.....	27
5.2. Proposta para estudos de eficiência de recuperação de SAC pelas membranas	27
5.3. Proposta de ensaios de determinação de coeficiente de seletividade e coeficiente de seletividade relativa.....	28
5.4. Proposta de determinação em águas superficiais.....	29
5.5. Levantamento de custos de aplicação .....	29

6.	CUSTOS DE APLICAÇÃO DA MEMBRANA MOLECULARMENTE IMPRESSA	31
7.	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS .....	32
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	33

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

AIBN	Azobisisobutironitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AQUA	Grupo de Automação, Quimiometria e Química Ambiental
ACS	Acessulfame
ASP	Aspartame
AS	Adoçante Sintético
CIC	Ciclamate
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DGT	Difusão Gradiente em Filmes Finos ( <i>Diffusive Gradients in Thin-film</i> )
EGDMA	Etilenoglicol dimetacrilato
ELL	Extração Líquido-Líquido
HLB	Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico ( <i>Hydrophilic-Lipophilic Balance</i> )
MIP	Polímero Molecularmente Impresso ( <i>Molecularly Imprinted Polymer</i> )
MF	Monômero Funcional
MM	Molécula Molde
NIP	Polímero Não Impresso ( <i>Non-Imprinted Polymer</i> )
RLC	Reagente de Ligação Cruzada
SAC	Sacarina
SUC	Sucralose
SPE	Extração em Fase Sólida ( <i>Solid Phase Extraction</i> )
TEOS	Tetraetoxisilano
UV	Detector de Ultravioleta
UV-Vis	Espectroscopia no Ultravioleta-Visível



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Diferença do poder adoçante. ....	12
<b>Tabela 2:</b> Discriminação de preços por quantidades gastas no preparo do MIP. ....	31
<b>Tabela 3:</b> Custo de aplicação de ambas membranas, considerando a dispersão de 1,2 g de fase sólida e 18 membranas confeccionadas.....	31

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da SAC.....	12
<b>Figura 2:</b> Espectro de absorção da SAC na presença de outros AS. ....	16
<b>Figura 3:</b> Estruturas do <b>(a)</b> ASP e <b>(b)</b> ACS.....	16
<b>Figura 4:</b> Espectro de excitação <b>(A)</b> e emissão <b>(B)</b> da SAC. ....	17
<b>Figura 5:</b> Taxa de recuperação para diferentes AS utilizando diferentes adsorventes. .....	21
<b>Figura 6:</b> Esquema de impressão molecular.....	22
<b>Figura 7:</b> Seletividade do MIP e NIP sólido-gel na extração de ACS.....	23
<b>Figura 8:</b> Seletividade do MIP híbrido para adsorção de AS. ....	23
<b>Figura 9:</b> Esquema de mecanismo de adsorção de SAC pela MIM. ....	24
<b>Figura 10:</b> Estrutura de um dispositivo DGT: <b>(a)</b> filtro de proteção; <b>(b)</b> membrana difusiva; e <b>(c)</b> membrana de ligação.....	25

## RESUMO

A grande maioria dos açúcares possuem elevados valores calóricos e são reconhecidos causadores de comorbidades, impactando, como um todo, o sistema de saúde. Em busca de substituintes, comumente utiliza-se adoçantes sintéticos (AS). A sacarina (SAC) foi o primeiro AS a ser sintetizado e, atualmente, é um dos mais consumidos. Arelada a sua baixa metabolização, a SAC vem sendo considerada um contaminante emergente em águas superficiais. A determinação convencional de SAC tem sido realizada por CLAE-UV após aplicar técnica de extração para isolar a SAC dos interferentes da amostra, como a SPE. Entretanto, as fases adsorventes empregadas não apresentam seletividade adequada, proporcionando aos polímeros molecularmente impressos uma relevante aplicação, visto que possuem cavidades tridimensionais seletivas para SAC. Uma tecnologia que tem se destacado recentemente é a aplicação das fases sólidas em membranas como estratégia de extração; sua produção é simples, barata e possui ampla versatilidade, como as aplicações em amostradores *in situ* através da técnica de difusão por gradiente em filmes finos. De modo a incrementar a seletividade dessa membrana, pode-se utilizar MIP como fase ligante durante sua confecção, produzindo assim uma membrana impressa molecularmente (MIM). Para a extração de SAC, esta estratégia se torna inovadora, visto que não foram encontrados trabalhos na literatura que abordasse este uso de membranas e MIP. Desta forma, este trabalho de conclusão de curso tem como objetivos a revisão da literatura, buscando comparar membranas produzidas a partir do MIP híbrido seletivo para SAC e a partir da fase sólida comercial HLB e, também, realizar um levantamento de custos de aplicação dessas membranas.

**Palavras-Chaves:** *sacarina; membrana molecularmente impressa; polímero molecularmente impresso; extração em fase sólida; adoçantes sintéticos.*

## ABSTRACT

The most sugars have high caloric values, and are recognized as causing comorbidities, directly impacting the health system. Looking for substitutes, artificial sweeteners (AS) are commonly used. Since saccharin (SAC) was the first AS to be synthesized and currently, it is one of the most consumed and, linked to this, its low metabolism, have been considered an emerging anthropogenic contaminant in superficial waters. The determination of SAC was performed by HPLC-UV coupled with extraction techniques to isolate SAC from sample interferences such as SPE. However, the adsorbent phases used do not present adequate selectivity, providing molecularly printed polymers a relevant application as they have selective three-dimensional cavities for SAC. A technology that has recently stood out is the application of solid phases in membranes as an extraction strategy; its production is simple and cheap and has wide versatility as applications in in situ samplers such as diffusive gradients in thin-films. In order to increase the selectivity of this membrane, MIP can be used as an extracting phase during its manufacture, thus producing a molecularly imprinted membrane (MIM). For the extraction of SAC, this strategy becomes innovative, since no works were found in the literature that addressed the use of MIM. Thus, this course conclusion work aims to review the literature, seeking to compare membranes produced from the selective hybrid MIP for SAC and from the commercial solid phase HLB and to carry out a survey of the application costs of these membranes.

**Keywords:** *saccharin; molecularly printed membrane; molecularly printed polymer; solid phase extraction; artificial sweeteners.*

## **1. DILIGÊNCIA DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Devido à situação pandêmica causada pelo vírus SARS-CoV-2, a realização dos experimentos laboratoriais foi comprometida. Assim, para este presente trabalho de conclusão de curso foi proposta uma revisão bibliográfica a respeito do objetivo apresentado. Para tal, foram utilizados os sites do Periódicos CAPES e Web of Science nos quais foram inseridos os termos:

- saccharin membrane;
- saccharine determination;
- molecular imprinted membrane;
- membrane extraction;
- saccharine extraction;
- diffusive gradients in thin films;
- o-DGT membrane;
- molecular imprinted membrane saccharin.

A escolha dos artigos cujos quais foram considerados para a revisão, seguiu o seguinte critério de prioridades:

- ano de publicação;
- número de citações;
- fator de impacto dos periódicos.

## 2. ADOÇANTES SINTÉTICOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES

### 2.1. Adoçantes sintéticos

A grande maioria dos açúcares são compostos de glucose, frutose e sacarose, que possuem valores calóricos elevados e são conhecidos causadores de obesidade, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares.<sup>1,2</sup> No Brasil, seguindo a tendência mundial, está sendo observado um aumento preocupante de casos de obesidade e diabetes causando forte impacto no sistema de saúde, decorrentes aos malefícios associados destas comorbidades.<sup>3</sup> Em busca de substituintes, comumente utilizam-se adoçantes de baixa caloria, ou adoçantes sintéticos (AS).<sup>4</sup>

Os AS são uma classe de compostos altamente adoçantes, os quais são usualmente adicionados como aditivos em alimentos, denominados de baixa calorias. Dentre esses adoçantes, os mais usados são: sacarina (SAC), aspartame (ASP), ciclamato (CIC), acessulfame (ACS), sucralose (SUC), entre outros.<sup>4</sup> O primeiro AS descoberto foi a SAC (**Figura 1**), sintetizada acidentalmente nos anos 1800, seu uso inicial era exclusivamente medicinal. Contudo, devido à escassez de açúcar no pós Segunda Guerra Mundial, passou a ser consumida em larga escala.<sup>4</sup>

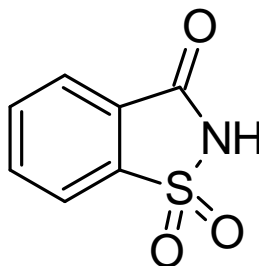


Figura 1: Estrutura química da SAC.

A SAC é o segundo AS mais consumido mundialmente, precedida por ASP e sucedida por ACS e SUC.<sup>5,6</sup> No Brasil, a ANVISA limitou em 2008 que o teor máximo de SAC em produtos alimentícios sendo 150 mg a cada 100 mL e, também, autorizou o emprego de misturas com outros AS para melhoria da palatabilidade.<sup>7</sup> O poder adoçante dessas substâncias vem sendo amplamente utilizado como um substituto “mais saudável” e baixo calórico para a sacarose, já que estão associados ao aumento da saciedade. A doçura destes AS estão indicados na **Tabela 1**.<sup>8-10</sup>

**Tabela 1:** Diferença do poder adoçante.<sup>9</sup>

Adoçantes Sintéticos	Poder adoçante (× sacarose)
Sucralose	400-800
Sacarina	240-300

Aspartame	200
Acessulfame – K	150-200
Ciclamato	30-80

---

\*calculado baseado na suposição que a sacarose é equivalente a uma unidade de doçura.

## 2.2. A sacarina como contaminante emergente

Estima-se que 28% da população consome diariamente alimentos com AS e outros aditivos, gerando o lucro mundial de US\$ 1,3 bilhão para o setor produtor de adoçantes apenas no ano de 2020, sendo que apenas de SAC o consumo global é de 9700 toneladas ao ano.<sup>6,11</sup>

Em contrapartida, diversos efeitos negativos já foram observados para outros AS, como a SUC por exemplo, que pode inibir respostas inflamatórias causando queda na resposta do sistema imunológico (humoral), consequentemente aumentando a susceptibilidade de ataques patogênicos.<sup>12</sup>

Estudos recentes apontam que a SAC possui um potencial risco ecotóxico para organismos humanos e aquáticos, já que mimetizam substâncias naturais, alterando vários sistemas bioquímicos podendo influenciar até mesmo no metabolismo de plantas, sendo considerada citotóxica e mutagênica. Para os seres humanos, a SAC apresenta potenciais riscos à saúde, como: um carcinogênico leve, causando tumores no trato urinário e até mesmo na bexiga de ratos machos; um dos principais fatores de inflamação intestinal em crianças; e é um indutor de inflamações no fígado.<sup>13</sup>

Quando ingerida, essa não é metabolizada pelo corpo humano, sendo excretada inalteradamente, resultando no seu aparecimento em águas superficiais e subterrâneas, o que pode indicar aporte ilegal e/ou tratamento inadequado de esgoto.<sup>14,15</sup> Dessa forma, é incentivado a inclusão da SAC, além de outros AS, no rol de contaminantes emergentes em águas.<sup>6</sup>

O termo “contaminantes emergentes” refere-se a substâncias que entraram no meio ambiente em decorrências da atividade antrópica e podem ser caracterizados pela sua alta permanência ambiental, que é a atrelada a baixa degradação dessas moléculas, assim se acumulando no meio ambiente.<sup>6</sup> Dentro deste grupo estão inclusos detergentes, fármacos, hormônios, pesticidas, drogas, entre outros.<sup>15</sup>

Em 2016, foram publicados estudos realizados em amostras de águas do sistema de tratamento de águas residuais de Vietnã, Filipinas e Mianmar e determinaram, no Vietnã,

concentração média de 13.000 ng L<sup>-1</sup> de SAC, sendo essa a mais elevada dentre os outros AS investigados, sucedido por: ASP, 2100 ng L<sup>-1</sup>; SUC, 1100 ng L<sup>-1</sup>; CIC, 580 ng L<sup>-1</sup>; e ACS, 360 ng L<sup>-1</sup>.<sup>16</sup> As concentrações médias de SAC nas Filipinas foram de 3800 ng L<sup>-1</sup> e 18 ng L<sup>-1</sup> em Mianmar.<sup>16</sup>

No Brasil, um trabalho realizado em 2021, determinou concentrações médias de 46000 ng L<sup>-1</sup> de SAC em águas de estações de tratamento de esgoto da região metropolitana de Campinas – SP.<sup>11</sup> Comparando os resultados, é possível afirmar que o consumo de SAC é significativo e superior a países como o Vietnã e Filipinas, e, também, é estimado que o consumo de SAC é de 479 toneladas ao ano, ficando atrás apenas do CIC, 1436 toneladas ao ano.<sup>11</sup>

Estes dados reforçam o potencial da SAC como um contaminante emergente, uma vez que tem sido determinada em diferentes partes do mundo em concentrações associado ao nível de consumo da população. Deste modo, estudos voltados para a determinação de SAC em diferentes amostras são incentivadas, em especial para o Distrito Federal, pois, até o momento, não foram encontrados trabalhos que determinassem SAC em amostras de águas nessa região.



### 3. DETERMINAÇÃO DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

Os métodos de determinação de SAC em águas superficiais devem apresentar seletividade e baixo limite de quantificação, dado que as concentrações médias deste AS encontra-se na ordem de  $\text{ng L}^{-1}$ .

O uso de misturas de adoçantes contribui para que ocorra uma variedade de matrizes nas quais a SAC está presente, reduzindo a seletividade dos métodos. Deste modo, o desenvolvimento de novos métodos para determinação de SAC em águas superficiais, abrange a compreensão das vantagens e limitações de diferentes métodos analíticos já descritos na literatura.

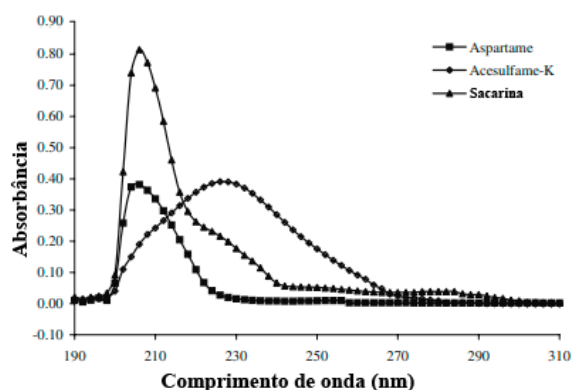
Diversos estudos propõe métodos utilizando diferentes técnicas de detecção para determinação de SAC, as mais recorrentes: espectrometria na região do UV-Vis; espectrofluorimetria; voltametria; gravimetria; potenciometria; e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com UV-VIS.<sup>17-20</sup>

A seguir serão discutidos os principais métodos utilizados na determinação de SAC, abordando suas vantagens e desvantagens.

#### 3.1. Espectrometria no UV-Vis

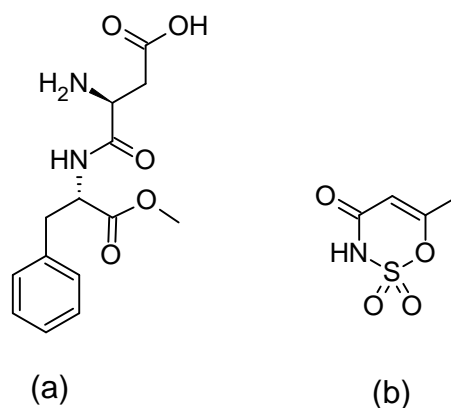
A espectrometria UV-Vis é uma das mais difundidas e utilizadas técnicas para determinação de compostos, utilizadas muitas vezes acoplada a CLAE. Esta técnica é a mais comumente utilizada para determinação de SAC em amostras alimentícias.<sup>21</sup> Contudo, estudos que envolvem a determinação de SAC utilizando UV-Vis em águas superficiais não foram encontrados.

Como demonstra o espectro da **Figura 2**, a absorbância máxima da SAC ocorre fortemente em 206 nm, sobre um pH de 1,3.<sup>21</sup> Contudo na presença de outros AS, ocorre as sobreposições das bandas.<sup>21</sup> Esta sobreposição pode ser explicada pelas estruturas químicas dos AS interferentes.



**Figura 2:** Espectro de absorção da SAC na presença de outros AS. <sup>21</sup>

Nota-se que a estrutura do ASP, **Figura 3(a)**, possui baixo número de insaturação, o que dificulta a absorção molecular, ainda que apresente centros quirais, que interagem com a radiação eletromagnética, o ASP tem menos sítios cromóforos que a SAC, necessitando de comprimentos de onda mais energético. Para o ACS, **Figura 3(b)**, a densidade eletrônica favorece a absorção em níveis energéticos mais baixos. Já para a SAC, **Figura 1**, apresenta uma condição intermediária entre ambos AS, absorvendo em comprimentos de onda característicos para ASP e para ACS.



**Figura 3:** Estruturas do (a) ASP e (b) ACS.

A determinação direta de SAC por UV-Vis em amostras de matrizes complexas é dificultada devido à essas sobreposições, deste modo pode se utilizar de métodos quimiométricos, como calibrações multivariadas por mínimos quadrados parciais.<sup>21</sup> Na literatura, foi encontrado um trabalho de determinação de SAC em sucos em pó, que utilizou essa metodologia e obtiveram concentrações médias de 28 mg L<sup>-1</sup>.<sup>21</sup>

A determinação de SAC em amostras que contenham outros AS utilizando apenas UV-Vis é pouco provável. Apesar disso, estudos antigos de determinação de SAC em produtos alimentícios buscavam isolar a SAC utilizando técnicas de extração líquido-líquido (ELL), utilizando clorofórmio como fase orgânica, e eliminar os interferentes da amostra através da oxidação com solução alcalina de permanganato.<sup>22</sup>

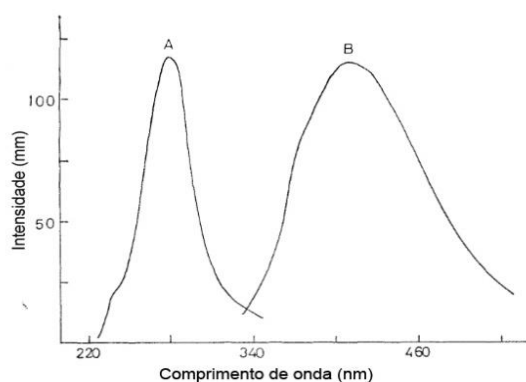
Apesar de pouco utilizada, a determinação de SAC pode ser realizada através de espectrofluorimetria.

### 3.2. Espectrofluorimetria

Em 1975, Nakamura propôs um método de determinação de SAC que utiliza espectrofluorímetro.<sup>23</sup> Neste método é necessário aplicar a ELL, utilizando clorofórmio como

fase orgânica, para isolar a SAC e permanganato de potássio para oxidar os interferentes da amostra de produtos alimentícios.<sup>23</sup>

Deste modo, foi possível determinar a concentração de SAC de produtos alimentícios, como: utilizando como comprimento de excitação, 277 nm (**Figura 4(A)**) e como comprimento de emissão, 410 nm (**Figura 4(B)**), obtendo assim o espectro.<sup>23</sup>



**Figura 4:** Espectro de excitação (A) e emissão (B) da SAC.<sup>23</sup>

Este método permitiu determinar SAC em concentrações da ordem de miligramas por litro, contudo, as concentrações de SAC em amostras de águas superficiais são inferiores a isso. Ainda que possível a aplicação, a SAC deverá ser isolada, pois outros AS presentes podem interferir na determinação, como o ASP, que apresenta comprimento de excitação em 205 nm e de emissão em 284 nm.<sup>24</sup>

Dentre as técnicas apresentadas até aqui, não existem estudos em que as utilizem para a determinação de SAC em águas superficiais que os utilizem, devido principalmente a seus limites de quantificação que não são inferiores a: 43,96  $\mu\text{g L}^{-1}$ , para a espectroscopia UV-Vis; e 7,14  $\text{mg L}^{-1}$ , para a espectrofluorimetria.<sup>25</sup> Deste modo, a técnica mais utilizada e difundida para determinação de SAC é a CLAE acoplada a UV-Vis.

### 3.3. Cromatografia líquida de alta eficiência

Devido aos limites das técnicas de detecção apresentados até aqui, em 1980, foi estabelecida pela Agencia de Remédios e Alimentos dos Estados Unidos (USFDA, acrônimo do inglês *United State Food and Drug Administration*) o uso da CLAE para determinar SAC em águas residuais, alimentos e urina.<sup>26</sup> A CLAE acoplada ao detector UV-Vis é o método validado para determinar concentrações de SAC, uma vez que se pode obter respostas de maneira rápida e reprodutível para diversas matrizes.<sup>26,27</sup> Neste método, os parâmetros cromatográficos de análises são: coluna cromatográfica de fase reversa de  $\text{C}_{18}$  com 30 cm; comprimento de onda definido em 230 nm; velocidade de eluição 1  $\text{mL min}^{-1}$ ; e pressão à 1500

psi. A fase móvel utilizada para determinação de SAC em águas residuais, uma solução de 40% de metanol e 60% de solução de íon-pareado, essa é composta por hidrogenossulfato de tetrabutílamônio e fosfato de potássio monobásico.<sup>26</sup> A técnica de extração utilizada pelo método é a ELL da SAC, utilizando éter como fase orgânica, deste modo, o estudo determinou o teor de 650 ng L<sup>-1</sup> de SAC em águas residuais da cidade de Jefferson – Arizona, Estados Unidos da América.<sup>26</sup>

Atualmente emprega-se CLAE acoplada à espectrometria de massa em tandem, sendo considerado o mais sofisticado dos métodos apresentados até aqui.<sup>27</sup> Uma das metodologias proposta, emprega os seguintes parâmetros cromatográficos de trabalho: coluna cromatográfica de C<sub>18</sub>; velocidade de eluição de 200 µg min<sup>-1</sup>; fase móvel utilizada foi uma solução de metanol e ácido fórmico 0,1% em água; e como detector espectrômetro de massa em tandem, que consistem em dois espectrômetros de massa quadrupolos ligados em série.<sup>28</sup>

A partir deste método, estudos publicados em 2014 determinaram o teor de SAC em águas residuais. O primeiro, utilizou amostras de sete províncias e quatro cidades da Coreia do Sul, determinando concentrações médias de 23,9 µg L<sup>-1</sup>, 19,9 µg L<sup>-1</sup> e 49,5 µg L<sup>-1</sup> em águas residuais provenientes de plantas de tratamento de águas residuais de indústrias, mistas e domésticas, respectivamente.<sup>28</sup> O segundo, utilizou amostras de duas plantas de tratamento distintas na área de Albany - Nova Iorque, Estados Unidos da América, obtendo a concentração média de 16,4 µg L<sup>-1</sup>.<sup>29</sup> Neste método o preparo da amostra foi feito através da extração em fase sólida (SPE, acrônimo do inglês, *Solid-Phase Extraction*) utilizando como fase sólida C<sub>18</sub> e o polímero HLB (acrônimo do inglês, *Hydrophilic-Lipophilic Balance*), respectivamente.<sup>28,29</sup>

Nota-se que há a necessidade de isolar a SAC para os métodos que empregam CLAE, a fim de melhorar sua reprodutibilidade. O método apresentado em 1980, utiliza ELL, o que atualmente é desencorajado. Os métodos atuais incentivam a utilização da SPE, uma vez que essa apresenta uma melhor seletividade e um baixo consumo de solventes.

Ampliando para os demais métodos, todos apresentaram etapas de preparo de amostra, utilizando principalmente as técnicas de extração. Esta necessidade surge devido à composição da matriz, como o caso de amostras de águas residuais, uma vez que não é possível determinar a composição da matriz.

Assim, na tentativa de minimizar as possíveis interferências causadas por componentes da amostra bruta, os métodos requerem a utilização de extração, tornando a etapa de preparo de amostras uma das mais importantes para os métodos de determinação de SAC em águas superficiais.<sup>30,31</sup>

Dentre às técnicas que otimizem os métodos de determinação de SAC, a SPE recebe maior atenção, um vez que compreende grande parte das características almejadas para boas técnicas de extração, como seletividade, rapidez e baixo uso de solventes. Portanto, é importante compreender a natureza e evoluções das técnicas de extração de SAC.

#### **4. TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO NO PREPARO DE AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO DE SACARINA**

Alguns métodos de determinação de SAC podem utilizar técnicas de extração como ELL, precipitação com nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) e SPE, para isolar a SAC.<sup>25,32</sup> Contudo, a aplicação de ELL e de precipitação com  $\text{AgNO}_3$  é bastante limitada. Inicialmente pela baixa seletividade destas técnicas, uma vez que pode haver a presença de outros AS, que serão extraídos pela ELL juntamente com a SAC, ou a presença de cloreto, ou outro halogeneto, que precipitam junto com ao sal sacarinato de prata (Ag-SAC).<sup>32,33</sup>

Do ponto de vista ambiental, a aplicação de ELL apresenta uma desvantagem considerável quando comparada a SPE, principalmente, pelo alto consumo de solventes orgânicos, como éter e clorofórmio, uma vez que a SPE utiliza baixos volumes de solventes. Já a precipitação com prata tem um metal como resíduo, o que, por si só apresenta riscos ambientais.

Com isso, a SPE ganha destaque dentre as técnicas de extração, sendo, atualmente a mais utilizada para extração de SAC.<sup>31,34</sup> Deste modo, é importante compreender no que consiste a SPE.

##### **4.1. Extração em fase sólida**

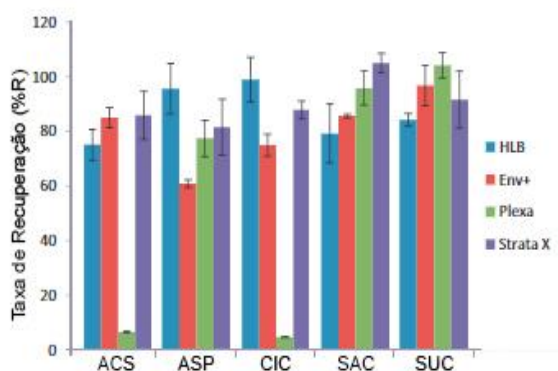
O procedimento de extração por SPE consiste, basicamente no: condicionamento da fase sólida, retenção do analito; lavagem dos interferentes; e por fim, a eluição da SAC da fase sólida.<sup>35</sup>

O mecanismo de extração se dá devido às interações do analito com uma fase sólida, assim, esta deve ser escolhida em função das interações químicas, capacidade adsorptiva e seletividade.<sup>11,36</sup> Atualmente há uma gama de fase sólidas que podem ser utilizadas em SPE, as quais são classificadas como: polares; apolares; de troca iônica; entre outras.<sup>37</sup>

Os adsorventes mais utilizados para extração de SAC são: os à base de sílica, como o  $\text{C}_8$  ou  $\text{C}_{18}$ ; ou à base de polímeros, como o HLB (produzido pela Oasis<sup>®</sup>).<sup>11</sup> Atualmente, o HLB é o mais vendido devido aos resultados rápidos, fáceis e reprodutíveis.<sup>11,38</sup>

Em 2012, foi publicado um estudo no qual foi comparada alguns adsorventes utilizados em SPE para extração de SAC e outros AS em amostras soluções individuais, como: o Env + (produzido pela Biotage); o Bond Elut Plexa (Varian); e o Strata X (Phenomenex).<sup>34</sup> Para tal, utilizaram cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa, os parâmetros cromatográficos de trabalho empregados, foram: colunas

cromatográficas C<sub>18</sub> e interação hidrofílica; a 40° C; velocidade de eluição de 0,2 mL min<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos para ACS, ASP, CIC, SAC e SUC são apresentados na **Figura 5**.<sup>34</sup>



**Figura 5:** Taxa de recuperação para diferentes AS utilizando diferentes adsorventes.<sup>34</sup>

Através destes resultados, pode-se notar que a taxa de recuperação de SAC pelo HLB é elevada e bastante próxima da SUC e do ACS. Contudo, é importante salientar que o estudo foi realizado em soluções individuais, assim, em amostras de águas superficiais, ou residuais, pode haver a presença de outro AS. Caso ocorra, por exemplo, a presença de ASP e SAC na mesma amostra, durante a extração ocorrerá uma competição entre estes AS, deste modo, o ASP ficará retido na fase sólida de HLB, pois apresenta maior interação com essa, e a SAC continuará em solução.

No ano de 2012, foi publicado um estudo realizado na Suíça com amostras de águas superficiais e residuais, no qual foi determinado o teor de SAC através de CLAE acoplada ao espectrômetro de massa, empregando HLB como fase sólida para SPE. Assim, foi possível obter a concentração média de 41 ng L<sup>-1</sup>, para águas superficiais, e 2007 ng L<sup>-1</sup>, para águas residuais.<sup>39</sup>

À luz deste fato, adsorventes mais seletivos devem ser considerados para atuarem em SPE, assim é importante o desenvolvimento de novos sólidos adsorventes, principalmente para a SAC.

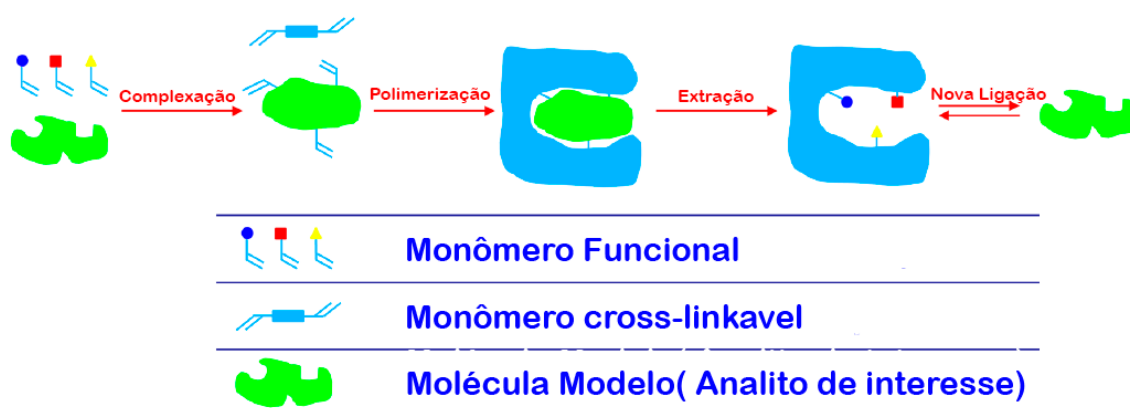
Os polímeros molecularmente impressos (MIPs, acrônimo do inglês *Molecularly Imprinted Polymers*) vem apresentando resultados promissores na extração de compostos individuais e redução de efeito de matriz, deste modo, sua aplicação como adsorvente seletivo em SPE tem sido bastante difundida.<sup>34</sup>

#### 4.1.1. Polímeros molecularmente impressos

Os primeiros trabalhos que citam, especificamente, polímeros impressos foram publicados em 1984 por Mosbach e Sellergreen. Contudo, há trabalhos que citam

características semelhantes aos dos atuais polímeros impressos datadas desde 1949, com estudos de Dickey.<sup>40,41</sup> Gradualmente os MIPs estão sendo disponibilizados comercialmente, ainda que para um número reduzido de analitos.<sup>42</sup> A principal característica dos MIPs diz respeito às suas cavidades tridimensionais formadas no processo de síntese, que os confere seletividade.<sup>43</sup>

Durante o procedimento de síntese, utiliza-se uma molécula molde (MM), que é complexada, preferencialmente de maneira reversível, por monômeros funcionais (MF); e na sequência, um reagente de ligação cruzada (RLC) é adicionado, formando o polímero a partir do fechamento da cadeia envolta do complexo formado. Após o processo de polimerização, a MM é removida por lavagem, deixando as cavidades tridimensionais disponíveis para o procedimento de extração, conforme esquematizado na **Figura 6**.<sup>38,44</sup> Como controle de síntese, um polímero não impresso (NIP, acrônimo do inglês *Non-Imprinted Polymers*), é preparado concomitante ao preparo do MIP, sem adição da MM.<sup>42,44</sup>

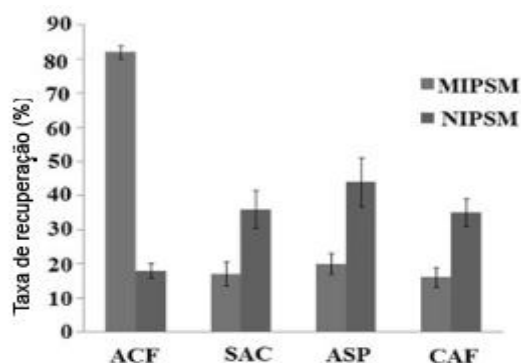


**Figura 6:** Esquema de impressão molecular.<sup>44</sup> Adaptado de Yoshikawa, Tharpa e Dima (2016).

A extração utilizando MIP ocorre através de um mecanismo do tipo “chave/fechadura”, deste modo, o analito cujo o qual foi utilizado como MM, será extraído da amostra, resultando em uma técnica robusta, seletiva e econômica.<sup>40,45</sup>

Estudos utilizando MIP em SPE para extração de AS, estão ganhando notoriedade. Em 2015, foi proposto o uso de um MIP sol-gel para extração seletiva de ACS em amostras de bebidas através da extração *on-line* e determinação por CLAE-UV. Os resultados foram promissores, apresentando na **Figura 7**, uma taxa de recuperação de próxima de 80% e capacidade adsortiva de 350 mg g<sup>-1</sup> para ACS.<sup>46-48</sup>

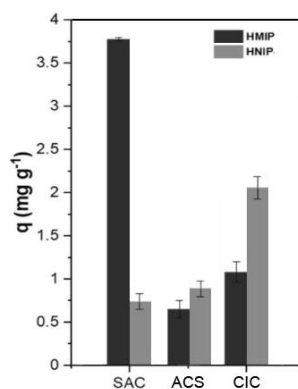




**Figura 7:** Seletividade do MIP e NIP sólido-gel na extração de ACS.<sup>46</sup>

Recentemente, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um MIP híbrido, ou seja, que apresenta características orgânicas e inorgânicas, para extração seletiva de SAC.<sup>49</sup> Para a confecção deste MIP híbrido foi utilizado como reagentes: para a confecção do monômero híbrido, 6,4 mmol de APTES e 8,1 mmol de MAA; para a confecção do MIP, 4,0 mmol de monômero híbrido, 1,0 mmol de SAC (molécula molde), 10 mL de clorofórmio, 5,0 mmol de TEOS, 25,0 mmol de EGDMA e 0,3 mmol de AIBN.<sup>50</sup>

A capacidade adsortiva deste MIP híbrido foi determinada, e apresenta valores entre 4,88 mg g<sup>-1</sup>.<sup>50</sup> Os resultados obtidos, mostrados na **Figura 8**, demonstram a seletividade do MIP híbrido para SAC, recuperando a SAC até próximo de sua capacidade adsortiva máxima.



**Figura 8:** Seletividade do MIP híbrido para adsorção de AS.<sup>50</sup>

Dentre as possíveis aplicações dos MIPs, uma tem recebido destaque nas técnicas de separação é a aplicação de MIPs como componente de membranas, gerando assim as membranas molecularmente impressas (MIM, acrônimo do inglês *Molecularly Imprinted Membrane*).<sup>51</sup>

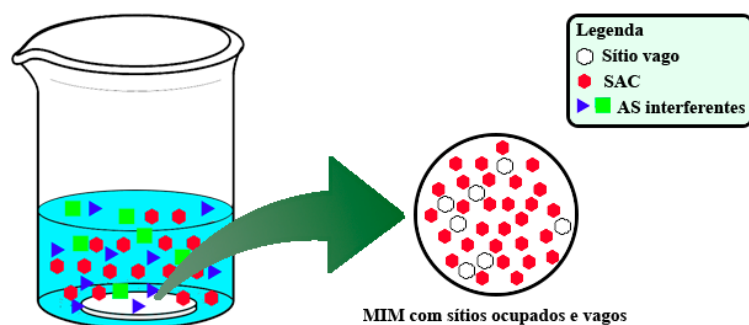
#### 4.1.2. Extração por membranas

Membranas podem ser caracterizadas por apresentar permeabilidade, permitindo que a maioria das aplicações ocorram baseadas em processos de transferência de massa.<sup>44,51</sup> A aplicação de membranas como adsorventes apresentam grande êxito em aplicações industriais, como na purificação de água por osmose reversa e na purificação do sangue por diálise ou ultrafiltração.<sup>51</sup>

De forma específica, a aplicação de membranas pode ser considerada um avanço para etapas de preparo de amostra em métodos mais complexos, como nas áreas da proteômica e genômica.<sup>51</sup> Por outro lado, o uso de membranas adsorventes em sistema com alimentação constante são limitados devido sua capacidade extração, dificultando sua aplicação em fluxo contínuo.<sup>51</sup>

As MIMs são preparadas a partir de hidrogéis, comumente agarose ou poliacrilamida como base e a dispersão de uma fase adsorvente nesta base, comumente C<sub>18</sub>, HLB ou MIP.<sup>52</sup> Apesar de serem escassos os estudos envolvendo aplicações de MIMs como fase extratora, essas podem ser utilizadas para extração de analitos a partir de um grande volume de amostra.<sup>51,53</sup>

Os mecanismos, como mostrado na **Figura 8**, envolvidos na extração consiste na adsorção da SAC na MIM, após o tempo de equilíbrio essa é retirada da solução e, posteriormente, ocorre a eluição da SAC utilizando solventes como metanol.<sup>51,53</sup>

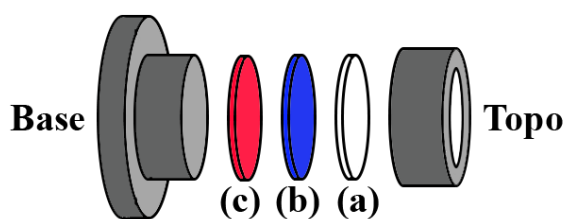


**Figura 9:** Esquema de mecanismo de adsorção de SAC pela MIM.

Uma estratégia inovadora, é o uso de MIM em amostradores passivos. Essa técnica consiste na aplicação do dispositivo de amostragem o-DGT (acrônimo do inglês *Diffusive Gradients in Thin-films*). Esta técnica baseia-se em uma amostragem passiva para moléculas orgânicas, que são colocados no local a ser analisado e possibilitam a

amostragem e a extração *in situ* do analito. Isso, pode reduzir significativamente o tempo de análise e contaminações cruzadas durante o transporte até o laboratório de análise.<sup>54,55</sup>

O dispositivo apresentado na **Figura 10** compreende um filtro de proteção, que realiza a retenção de partículas maiores, **Figura 10(a)**; uma membrana difusiva de agarose, **Figura 10(b)**; e uma membrana ligante, que é responsável pela adsorção do analito, **Figura 10(c)**. Após um determinado tempo, a membrana é removida e o analito é extraído com um solvente apropriado.<sup>56-58</sup> Devido às características da MIM, como a seletividade, e as necessidades que a membrana ligante do DGT, a MIM pode ser empregada como membrana ligante, obtendo assim um dispositivo de amostragem seletivo para SAC.<sup>55,59</sup>



**Figura 10:** Estrutura de um dispositivo DGT: (a) filtro de proteção; (b) membrana difusiva; e (c) membrana de ligação.

O primeiro estudo a sugerir o uso de DGT como amostrador passivo para moléculas orgânicas foi publicado em 2012. Nesta técnica, utilizaram poliacrilamida como base para a confecção da membrana e a fase adsorvente XAD18 na confecção da membrana de ligação e foi aplicada para a extração do antibiótico sulfametoxazol. A determinação foi realizada utilizando CLAE-UV, com comprimento de onda de máxima absorção em 265 nm.<sup>55</sup>

Utilizando este método, foi possível determinar o teor de  $7,6 \pm 0,5 \text{ ng L}^{-1}$  de sulfametoxazol no rio Aire – Lancaster, Reino Unido. Através deste resultado, foi possível evidenciar o grande potencial de ampliação do DGT para determinação de moléculas orgânicas.<sup>55</sup>

Foi publicado em 2021 um estudo de determinação de contaminantes emergentes em águas superficiais do rio Iraí – Paraná, Brasil, utilizando o-DGT para extração de 4-octilfenol, 4-nonilfenol, bisfenol e triclosano. Neste método, foi utilizado gel de agarose como base para as membranas e fase sólida HLB para a confecção da membrana de ligação. A determinação se deu através de cromatografia gasosa acoplada

ao espectrômetro de massa em tandem. Os teores de 4-octilfenol, 4-nonilfenol, bisfenol e triclosano foram determinados, como:  $11 \pm 6 \text{ ng L}^{-1}$ ;  $10 \pm 5 \text{ ng L}^{-1}$ ;  $0,05 \pm 0,02 \text{ ng L}^{-1}$ ; e  $0,6 \pm 0,4 \text{ ng L}^{-1}$ , respectivamente.<sup>52</sup>

Estudos que utilizem o-DGT para determinação de SAC estão sendo realizados. No ano de 2021, um trabalho realizado pelo grupo de pesquisa AQQUA, demonstrou que o MIP híbrido desenvolvido por esse, pode ser utilizado na confecção de membranas ligantes para extração de SAC.<sup>60</sup>

Não há na literatura estudo que permitam reutilizar a MIM, uma vez que o gel de agarose acaba sendo dissolvido. No entanto, o MIP híbrido resiste e pode ser reutilizado por seis ciclos de extração com 100% de capacidade adsortiva, o que pode significar uma vantagem de custos em relação a fase sólida, como HLB.<sup>61</sup>

## 5. PROPOSTA DE MÉTODOS PROPOSTOS PARA REALIZAÇÃO FUTURA

Conforme os trabalhos apresentados na revisão bibliográfica, sugere-se um método de avaliação comparativa de membranas confeccionadas com MIP híbrido e HLB em função dos parâmetros como: a taxa de recuperação; coeficiente de seletividade; coeficiente de seletividade relativa; e custos.

Em função da pandemia e isolamento social devido ao novo coronavírus, não foi possível realizar os procedimentos experimentais propostos, desta forma realizou-se uma perspectiva de custo baseada em procedimentos experimentais publicados pelo nosso grupo de pesquisa AQQUA.

### 5.1. Proposta de confecção de membranas molecularmente impressas

Deverão ser confeccionadas, em triplicata, três membranas de gel de agarose distintas, duas utilizando os polímeros apresentados (MIP híbrido e Oasis<sup>®</sup> HLB) e uma sem dispersão de polímero.

A solução de agarose será preparada numa proporção de 1,5%<sub>(m/V)</sub> utilizando 0,18 g de agarose em 12 mL de água ultrapura (Mili-Q), essa mistura será levada ao micro-ondas até a total dissolução da agarose. A membrana sem adição de polímero será utilizada como branco, para tal, essa solução será vertida em placas de vidro pré-aquecida contendo espaçadores de 0,8 mm e permanecerão em capela de fluxo laminar até a gelificação. Após isso, serão seccionadas em discos de 2,5 cm de diâmetro, essas serão acondicionadas em solução de nitrato de sódio 0,05 mol L<sup>-1</sup> a 4 °C.

As membranas utilizando os polímeros MIP híbrido e Oasis<sup>®</sup> HLB serão confeccionadas em uma proporção de 10%<sub>(m/V)</sub>, dispersando assim 1,2 g de MIP híbrido e de HLB, para cada respectiva membrana, em solução de agarose 1,5%<sub>(m/V)</sub>. Essas serão vertidas em placas de vidro pré-aquecidas com espaçadores de 0,8 mm e permanecerão em capela de fluxo laminar até atingir a gelificação, assim podendo ser seccionadas em discos de 2,5 cm de diâmetro, as quais serão acondicionadas em solução de nitrato de sódio 0,05 mol L<sup>-1</sup> a 4 °C.

### 5.2. Proposta para estudos de eficiência de recuperação de SAC pelas membranas

Para os estudos de adsorção, as membranas de MIP e HLB, serão adicionadas em tubos Falcon de 15 mL contendo 10 mL de solução aquosas ácidas (pH~3,0) em diferentes concentrações iniciais ( $C_i$ ), 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de SAC e solução com força iônica 0,01 mol L<sup>-1</sup> (NaNO<sub>3</sub>; n=3) e serão mantidas em agitação por 96 h. Posteriormente, serão centrifugadas durante 5 minutos a 4000 rpm e filtradas em membrana de filtração 0,22 µm.

O sobrenadante será utilizado para determinar a concentração final de SAC não retida pela membrana, essa se dará por CLAE acoplado com detector UV. Após a obtenção dos sinais analíticos será plotada uma curva de correlação linear, obtendo-se a equação expressa pela **Equação 1**, na qual os sinais instrumentais serão dados por  $y$  e a concentração será dada em  $x$ , como mostrado na **Equação 2**.

$$y = mx + n \quad (1)$$

$$x = C_f = \frac{y-n}{m} \quad (2)$$

Com isso as taxas de recuperação (%R) poderão ser calculadas, pela **Equação 3**, para as três membranas.

$$\%R = \frac{(c_i - c_f)}{c_i} \cdot 100\% \quad (3)$$

Na qual,  $c_i$  é concentração inicial e  $c_f$  é a concentração final, restante no sobrenadante.

### 5.3. Proposta de ensaios de determinação de coeficiente de seletividade e coeficiente de seletividade relativa

Para os ensaios de seletividade competitiva, será preparada uma solução ternária ácidas contendo CIC, ACS e SAC na concentração de 15,0 mg L<sup>-1</sup>, cada. As membranas de MIP híbrido seletivo para SAC serão colocadas em tubos Falcon de 15 mL, contendo 10 mL de solução ternária em seguida serão agitados por 10 h. Após, o sobrenadante será filtrado através de membrana filtrante 0,22 μm e será quantificada por UV-vis, o mesmo será aplicado para a membrana confeccionada com o HLB e controle.

Com isso, será possível determinar o coeficiente de seletividade ( $k$ ) e de seletividade relativa ( $k'$ ). Para tal, é necessário entender os conceitos de coeficiente de distribuição ( $k_d$ ), que define os padrões adequados para se obter a melhor capacidade adsorptiva do material, assim, as **Equações 4 e 5** determinam os  $k_d$  da SAC ( $k_{d_{SAC}}$ ) e dos interferentes ( $k_{d_{INT}}$ ).

$$k_{d_{SAC}} = \left( \frac{c_{i_{SAC}} - c_{f_{SAC}}}{c_{f_{SAC}}} \right) \cdot \left( \frac{V}{m} \right) \quad (4)$$

$$k_{d_{INT}} = \left( \frac{[c_{i_{CIC}} + c_{i_{ACS}}] - [c_{f_{CIC}} + c_{f_{ACS}}]}{[c_{f_{CIC}} + c_{f_{ACS}}]} \right) \cdot \left( \frac{V}{m} \right) \quad (5)$$

Na qual,  $c_{i_{SAC}}$  é a concentração inicial de SAC;  $c_{f_{SAC}}$  é concentração final de SAC no sobrenadante;  $V$  é o volume da solução em mililitros; e  $m$  é a massa de polímero utilizada.

Deste modo, é possível calcular, pela **Equação 6**, para cada membrana, um coeficiente de seletividade ( $k_{MIP}$  e  $k_{HLB}$ ), após pode-se aplicar à **Equação 7** para determinar a seletividade relativa.

$$k = \frac{k_{dSAC}}{k_{dINT}} \quad (6)$$

$$k' = \frac{k_{MIP}}{k_{HLB}} \quad (7)$$

#### 5.4. Proposta de determinação em águas superficiais

Para uma futura determinação de SAC em amostras de águas superficiais, serão coletadas, em frascos plásticos previamente ambientados, amostras de água em diferentes pontos do Lago Paranoá (Brasília, DF). Essas serão filtradas, em laboratório, por membrana de 0,47  $\mu\text{m}$ , após serão fortificadas com 0,750  $\text{mg L}^{-1}$  de SAC e acidificadas até pH próximo de 3 com solução de HCl e, por fim, serão colocadas em um tubo Falcon. As MIM serão imersas nestas amostras e ficarão por 96 h sobe agitação em um agitador hematológico, após serão centrifugadas por 5 min em 4000 rpm. Para extração da SAC da MIM, deve-se utiliza-se solução de metanol, conforme estabelecido por Bande (2021).<sup>60</sup>

Com a evaporação do metanol em capela de fluxo laminar, será adicionado 3,0 mL de água ultrapura e será filtrado em membrana de 0,22  $\mu\text{m}$ . Essa será analisada por CLAE-UV com uma coluna cromatográfica  $C_{18}$  com diâmetro médio de 5  $\mu\text{m}$ , em uma corrida de 0,8  $\text{mL min}^{-1}$ , injeção de 100  $\mu\text{L}$  de amostra e fase móvel de acetonitrila e tampão de fosfato pH 4. A detecção será realizada por UV em comprimento de onda de 232 nm.

Assim, com estes resultados, espera-se obter uma nova metodologia de determinação de SAC, na qual, emprega-se o-DGT para amostragem e extração *in-situ* da SAC, reduzindo as etapas de amostragem e preparo de amostras a apenas uma única etapa, com seletividade e eficiência ímpar.

#### 5.5. Levantamento de custos de aplicação

Para garantir um método competitivo em questões mercadológicas é importante determinar o custo de aplicação de membranas produzidas a partir do MIP híbrido e do HLB, que atualmente é a fase sólida mais utilizada na determinação de AS.

Os custos de aplicação foram calculados utilizando os reagentes químicos e suas quantidades estabelecidos anteriormente por Dourado (2019), sendo estes: 6,4 mmol de

APTES e 8,1 mmol MAA, utilizados para a produção do monômero funcional híbrido; 4,0 mmol deste monômero, 1,0 mmol de SAC e 10 mL de clorofórmio, 5,0 mmol de TEOS, 25,0 mmol de EGDMA e 0,3 mmol de AIBN. Assim, através do site da Waters foi possível obter o preço do frasco de 100 g da fase sólida HLB de R\$ 6.311,84, com partículas de diâmetro 30  $\mu\text{m}$ . Com relação aos outros reagentes químicos utilizados para síntese do MIP e da MIM, foi consultado o site da Sigma-Aldrich (Merck).



## 6. CUSTOS DE APLICAÇÃO DA MEMBRANA MOLECULARMENTE IMPRESSA

A **Tabela 2** discrimina os preços dos reagentes descritos na literatura por quantidade utilizada na confecção de 6,0 g de MIP híbrido.

**Tabela 2:** Discriminação de preços por quantidades gastas no preparo do MIP.

Reagentes químicos	Preço por quantidade utilizada
Monômero	R\$ 2,52
PVA	R\$ 9,41
AIBN	R\$ 0,53
EGDMA	R\$ 21,95
TEOS	R\$ 1,42
SAC	R\$ 38,61
Clorofórmio	R\$ 4,87
Total	R\$ 79,31

Correlacionado o preço por grama de MIP e de HLB, temos que R\$ 13,22 e R\$ 63,12 por grama, respectivamente, os preços de aplicação para cada uma das membranas são apresentados na **Tabela 3**.

**Tabela 3:** Custo de aplicação de ambas membranas, considerando a dispersão de 1,2 g de fase sólida e 18 membranas confeccionadas.

	HLB	MIM
Preço por grama utilizada	R\$ 75,74	R\$ 15,86
Agarose	R\$ 0,86	R\$ 0,86
Total por membrana	R\$ 4,25	R\$ 0,93

Esse levantamento de preço visa demonstrar uma das vantagens de se utilizar MIP híbrido em membranas, dado que é mais seletivo, também apresenta uma alta competitividade entre os preços de uma membrana produzida a partir do MIP híbrido, visto que seu preço de aplicação em extração de SAC em soluções aquosas é 4,6 vezes menor do que a mesma aplicação utilizando uma membrana produzida a partir de HLB.

No que tange as questões ambientais, utilizar a MIM como membrana adsorvente ou parte integrante do DGT, garante um baixo uso de solventes para a extração da SAC.

## 7. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Ainda que estejam sendo realizados estudos, a literatura já demonstra alguns potenciais malefícios causados pelo consumo elevado e frequente de SAC e, também, o seu potencial como contaminante emergente.

Com base na literatura, sabe-se que o polímero HLB é pouco seletivo para a extração de SAC e que o MIP híbrido é mais seletivo para esta molécula, devido às suas cavidades tridimensionais. Assim, estendendo essa compreensão para as membranas produzidas utilizando estes polímeros como base, pode-se concluir que a membrana confeccionada a partir deste MIP híbrido será mais seletiva que a membrana confeccionada a partir do HLB.

Este trabalho de conclusão de curso propõe um método experimental para determinar a seletividade e eficiência, visto que devido à pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 não foi possível a sua realização.

Assim, as próximas fases deste projeto serão:

- Estudos de adsorvidade;
- Estudos de efeito de matriz;
- Aplicação de amostrador DGT *in situ* para amostragem e extração de SAC.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) de Oliveira, P. B.; Franco, L. J. Consumo de Adoçantes e Produtos Dietéticos Por Indivíduos Com Diabetes Melito Tipo 2, Atendidos Pelo Sistema Único de Saúde Em Ribeirão Preto, SP. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* **2012**, *34* (12), 128–139.
- (2) Gandhi, S.; Gat, Y.; Arya, S.; Kumar, V.; Panghal, A.; Kumar, A. Natural Sweeteners: Health Benefits of Stevia. *Foods Raw Mater.* **2018**, *6* (2), 392–402. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-392-402>.
- (3) Nilson, E. A. F.; Santin Andrade, R. da C.; de Brito, D. A.; de Oliveira, M. L. Costs Attributable to Obesity, Hypertension, and Diabetes in the Unified Health System, Brazil, 2018. *Rev. Panam. Salud Publica/Pan Am. J. Public Heal.* **2020**, *44*. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.32>.
- (4) Sylvetsky, A. C.; Rother, K. I. Trends in the Consumption of Low-Calorie Sweeteners. *Physiol. Behav.* **2016**, *164*, 446–450. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.03.030>.
- (5) Noronha, I. F. P. C. Determinação De Edulcorantes E Constituintes Inorgânicos Em Adoçantes De Mesa, 2019.
- (6) Praveena, S. M.; Cheema, M. S.; Guo, H. R. Non-Nutritive Artificial Sweeteners as an Emerging Contaminant in Environment: A Global Review and Risks Perspectives. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, *170* (August 2018), 699–707. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.048>.
- (7) ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N° 18, de 24 de Março de 2008. *Diário Oficial da União; Poder Executivo*. 2008, pp 5–26.
- (8) Bellisle, F.; Drewnowski, A.; Anderson, G. H.; Westerterp-Plantenga, M.; Martin, C. K. Sweetness, Satiation, and Satiety. *J. Nutr.* **2012**, *142* (6), 1149S-1154S. <https://doi.org/10.3945/jn.111.149583>.
- (9) Carocho, M.; Morales, P.; Ferreira, I. C. F. R. Sweeteners as Food Additives in the XXI Century: A Review of What Is Known, and What Is to Come. *Food Chem. Toxicol.* **2017**, *107*, 302–317. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.06.046>.
- (10) Arbeláez, P.; Borrull, F.; Pocurull, E.; Marcé, R. M. Determination of High-Intensity Sweeteners in River Water and Wastewater by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1393*, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.03.035>.

- (11) Alves, P. da C. C.; Rodrigues-Silva, C.; Ribeiro, A. R.; Rath, S. Removal of Low-Calorie Sweeteners at Five Brazilian Wastewater Treatment Plants and Their Occurrence in Surface Water. *J. Environ. Manage.* **2021**, *289* (November 2020), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112561>.
- (12) Rosales-Gómez, C. A.; Martínez-Carrillo, B. E.; Reséndiz-Albor, A. A.; Ramírez-Durán, N.; Valdés-Ramos, R.; Mondragón-Velásquez, T.; Escoto-Herrera, J. A. Chronic Consumption of Sweeteners and Its Effect on Glycaemia, Cytokines, Hormones, and Lymphocytes of GALT in CD1 Mice. *Biomed Res. Int.* **2018**, *2018*. <https://doi.org/10.1155/2018/1345282>.
- (13) Pang, L.; Borthwick, A. G. L.; Chatzisyneon, E.; Borthwick, G. L.; Chatzisyneon, E. Determination, Occurrence, and Treatment of Saccharin in Water: A Review. *J. Clean. Prod.* **2020**, *270* (122337), 122337. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122337>.
- (14) Renwick, A. G. The Metabolism of Intense Sweeteners For Personal Use Only. *Xenobiotica* **1986**, *16*, 1057–1071.
- (15) Richardson, S. D.; Ternes, T. A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.* **2018**, *90* (1), 398–428. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04577>.
- (16) Watanabe, Y.; Bach, L. T.; Van Dinh, P.; Prudente, M.; Aguja, S.; Phay, N.; Nakata, H. Ubiquitous Detection of Artificial Sweeteners and Iodinated X-Ray Contrast Media in Aquatic Environmental and Wastewater Treatment Plant Samples from Vietnam, the Philippines, and Myanmar. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2016**, *70* (4), 671–681. <https://doi.org/10.1007/S00244-015-0220-1>.
- (17) Álvarez-Romero, G. A.; Lozada-Ascencio, S. M.; Antonio Rodríguez-Ávila, J.; Andrés Galán-Vidal, C.; Páez-Hernández, E. Potentiometric Quantification of Saccharin by Using a Selective Membrane Formed by Pyrrole Electropolymerization. *Food Chem.* **2010**, *120*, 1250–1254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.072>.
- (18) Bergamo, A. B.; Fracassi Da Silva, A.; Pereira De Jesus, D. Simultaneous Determination of Aspartame, Cyclamate, Saccharin and Acesulfame-K in Soft Drinks and Tabletop Sweetener Formulations by Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection. *Food Chem.* **2011**, *124*, 1714–1717. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.107>.

- (19) Fatibello-Filho, O.; Nóbrega, J. A.; Guaritá-Santos, A. J. Flow Injection Potentiometric Determination of Saccharin in Dietary Products with Relocation of Filtration Unit. *Talanta* **1994**, *41* (5), 731–734.
- (20) Fatibello-Filho, O.; Aniceto, C. Potentiometric Determination of Saccharin in Dietary Products Using a Coated-Carbon Rod Ion-Selective Electrode. *Anal. Lett.* **1997**, *30* (9), 1653–1666. <https://doi.org/10.1080/00032719708001684>.
- (21) Llamas, N. E.; Nezio, M. S. Di; Palomeque, M. E.; Band, B. S. F.; Di Nezio, M. S.; Palomeque, M. E.; Fernández Band, B. S. Direct Determination of Saccharin and Acesulfame-K in Sweeteners and Fruit Juices Powders. *Food Anal. Methods* **2008**, *1* (1), 43–48. <https://doi.org/10.1007/s12161-007-9006-z>.
- (22) Hussein, M. M.; Jacin, H.; Rodriguez, F. B. Quantitative Determination of Saccharin in Food Products by Ultraviolet Spectrophotometry. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *24* (1), 36–40. <https://doi.org/10.1021/JF60203A034>.
- (23) NAKAMURA, Y. The Determination of Saccharin in Foods by Fluorometric Method. *Food Hyg. Saf. Sci. (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)* **1975**, *16* (6), 368-374\_1. <https://doi.org/10.3358/shokueishi.16.368>.
- (24) Wrobel, K.; Wrobeł, K. W. *Determination of Aspartame and Phenylalanine in Diet Soft Drinks by High-Performance Liquid Chromatography with Direct Spectrofluorimetric Detection*; 1997; Vol. 773.
- (25) Fatibello-Filho, O.; Gouveia, S. T.; Calafatti, S. A. ADOÇANTES ARTIFICIAIS. *Quim. Nov.* **1996**, *19* (3), 248–260.
- (26) Holder, C. L.; Bowman, M. C. Determination of Sodium Saccharin in Animal Feed, Wastewater and Human Urine by High-Pressure Liquid Chromatography. *Toxicol. Lett.* **1980**, *5* (1), 27–38. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(80\)90144-7](https://doi.org/10.1016/0378-4274(80)90144-7).
- (27) Bruno, S. N. F.; Cardoso, C. R.; Maciel, M. M. A.; Vokac, L.; da Silva Junior, A. I. Selective Identification and Quantification of Saccharin by Liquid Chromatography and Fluorescence Detection. *Food Chem.* **2014**, *159*, 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.001>.
- (28) Subedi, B.; Lee, S.; Moon, H.-B.; Kannan, K. Emission of Artificial Sweeteners, Select Pharmaceuticals, and Personal Care Products through Sewage Sludge from Wastewater Treatment Plants in Korea. *Environ. Int.* **2014**, *68*, 33–40.

<https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.03.006>.

- (29) Subedi, B.; Kannan, K. Fate of Artificial Sweeteners in Wastewater Treatment Plants in New York State, U.S.A. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48* (23), 13668–13674. <https://doi.org/10.1021/es504769c>.
- (30) Gilart, N.; Borrull, F.; Fontanals, N.; Marcé, R. M. Selective Materials for Solid-Phase Extraction in Environmental Analysis. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2014**, *1*, e8–e18. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2013.11.002>.
- (31) Di Pietra, A. M.; Cavrini, V.; Bonazzi, D.; Benfenati, L. HPLC Analysis of Aspartame and Saccharin in Pharmaceutical and Dietary Formulations. *Chromatographia* **1990**, *30* (3–4), 215–219. <https://doi.org/10.1007/BF02274550>.
- (32) Filho, J. C.; Santini, A. O.; Lu'cia, A.; Nasser, L. M.; Pezza, H. R.; De Oliveira, J.; Melios, B.; Pezza, L. Potentiometric Determination of Saccharin in Commercial Artificial Sweeteners Using a Silver Electrode. *Food Chem.* **2003**, *83*, 297–301. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00123-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00123-7).
- (33) Heydari, R.; Mousavi, M. Simultaneous Determination of Saccharine, Caffeine, Salicylic Acid and Benzoic Acid in Different Matrixes by Salt and Air-Assisted Homogeneous Liquid-Liquid Extraction and High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chil. Chem. Soc.* **2016**, *61* (3), 3090–3094. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072016000300017>.
- (34) Ordóñez, E. Y.; Quintana, J. B.; Rodil, R.; Cela, R. Determination of Artificial Sweeteners in Water Samples by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1256*, 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.07.073>.
- (35) Capitán-Vallvey M C Valencia E Arana Nicolás J F García-Jiménez, L. F. Resolution of an Intense Sweetener Mixture by Use of a Flow Injection Sensor with On-Line Solid-Phase Extraction Application to Saccharin and Aspartame in Sweets and Drinks. *Anal Bioanal Chem* **2006**, *385*, 385–391. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0346-0>.
- (36) Asimakopoulos, A.; Nikoleli, G.-P.; Thomaidis, N.; Nikolelis, D. Methods of Analysis of Saccharin. In *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods*; CRC Press, 2012; pp 863–874. <https://doi.org/10.1201/b11653-52>.
- (37) Moors, M.; Massart, D. L. A Small Expert System for Solid Phase Extraction. *Trends*

- Anal. Chem.* **1990**, *9* (5), 164–169.
- (38) Dias, A. C. B.; Figueiredo, E. C.; Grassi, V.; Zagatto, E. A. G.; Arruda, M. A. Z. Molecularly Imprinted Polymer as a Solid Phase Extractor in Flow Analysis. *Talanta* **2008**, *76* (5), 988–996. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.040>.
- (39) Berset, J. D.; Ochsenbein, N. Stability Considerations of Aspartame in the Direct Analysis of Artificial Sweeteners in Water Samples Using High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS). *Chemosphere* **2012**, *88* (5), 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.030>.
- (40) BelBruno, J. J. Molecularly Imprinted Polymers. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (1), 94–119. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00171>.
- (41) Dickey, F. H. The Preparation of Specific Adsorbents. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1949**, *35* (5), 227–229. <https://doi.org/10.1073/pnas.35.5.227>.
- (42) Figueiredo, E. C.; Dias, A. C. B.; Arruda, M. A. Z. Impressão Molecular: Uma Estratégia Promissora Na Elaboração de Matrizes Para a Liberação Controlada de Fármacos. *Rev. Bras. Ciências Farm. J. Pharm. Sci.* **2008**, *44* (3), 361–375. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000300005>.
- (43) Płotka-Wasyłka, J.; Marć, M.; Szczepańska, N.; Namieśnik, J. New Polymeric Materials for Solid Phase Extraction. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2017**, *47* (5), 373–383. <https://doi.org/10.1080/10408347.2017.1298987>.
- (44) Yoshikawa, M.; Tharpa, K.; Dima, Ş. O. Molecularly Imprinted Membranes: Past, Present, and Future. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (19), 11500–11528. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00098>.
- (45) Boysen, R. I. Advances in the Development of Molecularly Imprinted Polymers for the Separation and Analysis of Proteins with Liquid Chromatography. *Journal of Separation Science*. Wiley-VCH Verlag January 1, 2019, pp 51–71. <https://doi.org/10.1002/jssc.201800945>.
- (46) Moein, M. M.; Javanbakht, M.; Karimi, M.; Akbari-Adergani, B. Fabrication of a Novel Electrospun Molecularly Imprinted Nanomembrane Coupled with High-Performance Liquid Chromatography for the Selective Separation and Determination of Acesulfame. *J. Sep. Sci.* **2015**, *38* (8), 1372–1379. <https://doi.org/10.1002/jssc.201401186>.
- (47) Moein, M. M.; Javanbakht, M.; Karimi, M.; Akbari-Adergani, B. Molecularly Imprinted

- Sol-Gel Nanofibers Based Solid Phase Microextraction Coupled on-Line with High Performance Liquid Chromatography for Selective Determination of Acesulfame. *Talanta* **2015**, *134*, 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.11.011>.
- (48) Moein, M. M.; Abdel-Rehim, A.; Abdel-Rehim, M. Recent Applications of Molecularly Imprinted Sol-Gel Methodology in Sample Preparation. *Molecules* **2019**, *24* (2889). <https://doi.org/10.3390/molecules24162889>.
- (49) Dourado, C. S. Polímeros Molecularmente Impressos Para Extração Seletiva de Sacarina e Triclosan. *Tese Doutorado, Univ. Brasília* **2019**.
- (50) Dourado, C. S.; Casarin, F.; Braga, J. W. B.; Machado, F.; Dias, A. C. B. Synthesis and Evaluation of Hybrid Molecularly Imprinted Polymers for Selective Extraction of Saccharin in Aqueous Medium. *J. Polym. Res.* **2021**, *28* (2), 1–15. <https://doi.org/10.1007/S10965-020-02402-Z>.
- (51) Ulbricht, M. Membrane Separations Using Molecularly Imprinted Polymers. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2004**, *804* (1), 113–125. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.02.007>.
- (52) Wacheski, T.; Hara, E. L. Y.; Soares, B. G. S.; Da Silva, B. J. G.; Abate, G.; Grassi, M. T. O-DGT Devices for the Determination of Emerging Contaminants in Aqueous Matrices. *Artic. J. Braz. Chem. Soc* **2021**, *32* (1), 72–82. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200157>.
- (53) Yılmaz, P. K. Optimization of Hydrophilic-Lipophilic Balance Solid-Phase Extraction of Phthalates in Pharmaceutical Preparations. *J. Turkish Chem. Soc. Sect. A Chem.* **2019**, *6* (3), 271–280. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.526124>.
- (54) Chen, L.; Wang, X.; Lu, W.; Wu, X.; Li, J. Molecular Imprinting: Perspectives and Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45* (8), 2137–2211. <https://doi.org/https://doi.org/10.1039/C6CS00061D>.
- (55) Chen, C.; Zhang, H.; Jones, K. C. A Novel Passive Water Sampler for in Situ Sampling of Antibiotics. *J. Environ. Monit.* **2012**, *14* (6), 1493–1720. <https://doi.org/10.1039/c2em30091e>.
- (56) Fan, J. P.; Li, L.; Tian, Z. Y.; Xie, C. F.; Song, F. tian; Zhang, X. H.; Zhu, J. H. A Novel Free-Standing Flexible Molecularly Imprinted Membrane for Selective Separation of Synephrine in Methanol-Water Media. *J. Memb. Sci.* **2014**, *467*, 13–22.



<https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.05.018>.

- (57) Beigzadeh, Z.; Golbabaie, F.; Khadem, M.; Pourhassan, B.; Pourbabaki, R.; Kalantari, S.; Shahtaheri, S. J. Synthesis and Optimization of a Molecularly Imprinted Membrane as a Specific Absorbent to Assess the Occupational Exposure to the 5-Fluorouracil Drug. *Int. J. Nanosci.* **2020**, *20* (1), 1–14. <https://doi.org/10.1142/S0219581X21500034>.
- (58) Chen, R. R.; Qin, L.; Jia, M.; He, X. W.; Li, W. Y. Novel Surface-Modified Molecularly Imprinted Membrane Prepared with Iniferter for Permselective Separation of Lysozyme. *J. Memb. Sci.* **2010**, *363* (1–2), 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.07.026>.
- (59) Chen, C.; Zhang, H.; Ying, G.; Jones, K. C. Evidence and Recommendations to Support the Use of a Novel Passive Water Sampler to Quantify Antibiotics in Wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, *47*, 13587–13593. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1021/es402662g>.
- (60) Bande, M. V. dos S. Aplicação de Polímeros Molecularmente Impresso Em Dispositivo de Amostragem Passiva Para Determinação de Sacarina Em Águas Superficiais, 2021.
- (61) Dourado, C. S.; Domingues, I. F. F.; de Oliveira Magalhães, L.; Casarin, F.; Ribeiro, M. L.; Braga, J. W. B.; Dias, A. C. B. Optimization of a Saccharin Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction Procedure and Evaluation by MIR Hyperspectral Imaging for Analysis of Diet Tea by HPLC. *Food Chem.* **2022**, *367* (March 2021), 130732. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130732>.