

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

RENÊ ARRIERO SHINMA

**POLÍMERO DE IMPRESSÃO MOLECULAR SINTETIZADO POR MICRO-ONDAS
PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA EM
AMOSTRAS AMBIENTAIS**

**Poços de Caldas/MG
2021**

RENÊ ARRIERO SHINMA

POLÍMERO DE IMPRESSÃO MOLECULAR SINTETIZADO POR MICRO-ONDAS
PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA EM
AMOSTRAS AMBIENTAIS

Dissertação apresentada ao Instituto de
Ciência e Tecnologia da Universidade Federal
de Alfenas, campus Poços de Caldas, como
parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Engenharia Química.

Área de Concentração: Engenharia de
Produtos e Processos Químicos.

Orientador: Prof. Dr. Gian Paulo Giovanni
Freschi.

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Bertholdo.

Poços de Caldas/MG
2021

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Campus Poços de Caldas

Shinma, Renê Arriero.

Polímero de impressão molecular sintetizado por micro-ondas para extração em fase sólida e quantificação de cocaína em amostras ambientais / Renê Arriero Shinma. - Poços de Caldas, MG, 2021.

103 f. : il. -

Orientador(a): Gian Paulo Giovanni Freschi.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2021.

Bibliografia.

1. Cocaína. 2. Polímeros de impressão molecular. 3. Energia micro-ondas. 4. SPE. 5. Amostras ambientais. I. Freschi, Gian Paulo Giovanni, orient. II. Título.

POLÍMERO DE IMPRESSÃO MOLECULAR SINTETIZADO POR MICRO-ONDAS PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Engenharia Química.

Aprovada em: 16 de dezembro de 2021.

Prof. Dr. Gian Paulo Giovanni Freschi
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Ailton José Moreira
Instituição: Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Costa de Figueiredo, Professor do Magistério Superior**, em 16/12/2021, às 12:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **AILTON JOSE MOREIRA, Usuário Externo**, em 16/12/2021, às 12:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gian Paulo Giovanni Freschi, Professor do Magistério Superior**, em 16/12/2021, às 12:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0650973** e o código CRC **B849E100**.

Dedico esse trabalho à minha esposa, Denise, por tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder saúde, persistência e paciência para enfrentar as dificuldades que se apresentaram ao longo desse caminho.

Agradeço imensamente à minha esposa, Denise, que sempre me apoiou em todas as minhas decisões e me ajudou diariamente para a conclusão desse trabalho. Sem você isso não seria possível. Agradeço ao meu filho Heitor por compreender minhas ausências e me ajudar nos momentos difíceis. Passar algum tempo com vocês faz tudo voltar a valer a pena. Agradeço ao meu filho caçula, Tomás, cujo nascimento em meio a esse trabalho e após muito esperar forneceu esperanças e alegrias necessárias nessa jornada.

Agradeço aos meus pais, Januário e Alice, por sempre me incentivar a trilhar o caminho do conhecimento e do aprendizado. Esse trabalho é fruto do que vocês me ensinaram. Agradeço aos meus irmãos Enio e Taís pelo entusiasmo e pelo exemplo que são para mim. Muito obrigado.

Ao professor Gian Freschi, por confiar no meu trabalho, acreditar que era possível e sempre ter as respostas para todas as minhas perguntas. Sua competência, companheirismo e experiência realmente me orientaram durante todo o trabalho e juntamente com seu entusiasmo me incentivaram a continuar produzindo ciência.

Aos companheiros do LAFFEQ pelo apoio na realização dos trabalhos práticos e em especial ao Ailton e ao Thales, por me receber e me ambientar no laboratório e no campus.

Aos professores do PPGEQ pelos ensinamentos adquiridos e auxílio na execução dos trabalhos. A Unifal e todos os seus funcionários pela disponibilização de materiais, equipamentos e espaço físico, além da parceria para execução de novos projetos.

Ao Laboratório da Embrapa em São Carlos (SP) pelo apoio e realização das análises de RMN dos materiais sintetizados.

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

À FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro na compra de materiais.

À Delegacia de Combate ao Tráfico de Drogas de Poços de Caldas (MG), ao Ministério Público do Estado de Minas Gerais e à 2ª Vara de Justiça Criminal da comarca de Poços de Caldas (MG) pela solicitação e autorização para utilização do padrão de Cocaína utilizado como “molde” nesse trabalho. À Superintendência de Polícia Técnico-Científica e à Polícia Civil de Minas Gerais pelo fornecimento do padrão MRC de Cocaína utilizado para a calibração dos equipamentos bem como possibilitar a utilização da técnica de CG-MS para confirmação das análises.

Aos colegas do Posto de Perícia Integrada de Poços de Caldas (PPI-Poços de Caldas) pelo apoio incondicional e compreensão essenciais para a conclusão desse trabalho.

E a todos aqueles que, de uma forma ou de outra, me ajudaram a terminar esse estudo.

“A imaginação é mais importante que o conhecimento”

(EINSTEIN, A. 1931)

RESUMO

A cocaína é uma droga de abuso ilícita que causa inúmeros problemas sociais e a mensuração do seu consumo pela população exige metodologias mais precisas para quantificação em diferentes amostras ambientais e uma das formas é a quantificação dos metabólitos ou moléculas originais na rede de esgoto. A técnica de extração em fase sólida (SPE) utilizando polímero de impressão molecular (MIP) como fase sólida (MISPE) é uma técnica que permite eliminar os interferentes da matriz e concentrar a amostra. Portanto foram sintetizados MIPs utilizando energia micro-ondas (MW) em diferentes parâmetros para utilização em MISPE. Os polímeros foram produzidos em potências de 80W e 100W e no intervalo de 15 a 60 minutos de tempo de reação. Após a síntese foram analisados o rendimento em massa, estrutura molecular, estabilidade térmica e área superficial. Em seguida dois polímeros sintetizados com a molécula-molde de cocaína (MIP-1C e MIP-10C) foram comparados e por último o MIP-10C foi utilizado para quantificação de cocaína em esgoto urbano da cidade de Poços de Caldas (MG). Os resultados obtidos apresentaram um rendimento em massa de mais de 90% para adição de Cocaína como molécula-alvo quando comparado ao polímero sem adição de molécula-molde e um aumento no rendimento em massa de 39% para ajustes apenas na potência de síntese. Em todos os polímeros analisados foi demonstrado pela técnica de FTIR a incorporação do ligante cruzado na estrutura do polímero e a alteração da estrutura química com a adição da molécula-molde. A estabilidade térmica foi determinada até 120 °C e ao aumentar a potência de síntese para 100W houve a síntese do polímero a partir de 15 minutos e em 80W houve um aumento de 65% da área superficial (BET) quando comparado à potência de 100W. Os melhores resultados de síntese foram obtidos em 80W de potência e 30 minutos de tempo de reação. Os testes de adsorção e dessorção do MIP demonstraram uma capacidade de adsorção de cocaína do meio aquoso de 1,37% do peso do polímero, uma taxa de recuperação de 90% e a análise do esgoto urbano estimou um consumo populacional mensal em Poços de Caldas (MG) de aproximadamente 1,113Kg de pó contendo cocaína.

Palavras-chave: cocaína; polímeros de impressão molecular; energia micro-ondas; SPE; amostras ambientais.

ABSTRACT

Cocaine is an illicit drug of abuse that causes numerous social problems and the measurement of its consumption by the population requires more precise methodologies for quantification in different environmental samples and one of the ways is the quantification of the metabolites or original molecules in the sewage network. The solid phase extraction (SPE) technique using molecular imprinting polymer (MIP) as solid phase (MISPE) is a technique that allows to eliminate the interferences from the matrix and concentrate the sample. Therefore, MIPs were synthesized using microwave energy (MW) in different parameters for use in MISPE. The polymers were produced in powers of 80W and 100W and in the range of 15 to 60 minutes of reaction time. After the synthesis, the mass yield, molecular structure, thermal stability and surface area were analyzed. Then, two polymers synthesized with the cocaine as template molecule (MIP-1C and MIP-10C) were compared and finally the MIP-10C was used to quantify cocaine in urban sewage in the city of Poços de Caldas (MG). The results obtained showed a mass yield of more than 90% for the addition of Cocaine as a target molecule when compared to the polymer without addition of a template molecule and an increase in mass yield of 39% for adjustments only in the synthesis potency. In all analyzed polymers, the incorporation of the cross-linker into the polymer structure and the alteration of the chemical structure with the addition of the template molecule was demonstrated by the FTIR technique. The thermal stability was determined up to 120 °C and when increasing the synthesis power to 100W, the polymer was synthesized after 15 minutes and at 80W there was a 65% increase in the surface area (BET) when compared to the power of 100W. The best synthesis results were obtained at 80W of power and 30 minutes of reaction time. The MIP adsorption and desorption tests showed an adsorption capacity of cocaine from the aqueous medium of 1.37% of the polymer weight, a recovery rate of 90% and the analysis of urban sewage estimated a monthly population consumption in Poços de Caldas (MG) of approximately 1,113 kg of powder containing cocaine.

Keywords: cocaine; molecular imprint polymers; microwave energy; SPE; environmental samples.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da cocaína metil-[1R-(exo,exo)]-3-(benzoiloxi)-8-metil-8-azabicyclo [3,2,1]-octano-2-carboxilato.	25
Figura 2 - Principais produtos da biotransformação da cocaína (fonte: Gomes, M. J. de F).	27
Figura 3 - Ilustração com possíveis vias de transporte da cocaína no ambiente (fonte: Campestrini, I. – adaptada de Feitosa et al.).	31
Figura 4 - Ilustração genérica do processo de síntese do MIP. (Fonte: Santos, M.G et al.).	38
Figura 5 - Representação do espectro eletromagnético. (Fonte: Adaptado de Rana).	41
Figura 6 - Forma de geração de micro-ondas por aquecimento dielétrico. (Fonte: Adaptado de Wojnarowicz).	43
Figura 7 - Ilustração dos processos de aquecimento por micro-ondas e métodos convencionais. (Fonte: Adaptado de Wojnarowicz).	45
Figura 8 - Esquema gráfico evidenciando o processo de remoção da molécula-molde.	57
Figura 9 - Esquema gráfico evidenciando o processo dos ensaios de adsorção.	58
Figura 10 - Esquema gráfico evidenciando o processo dos ensaios de adsorção para determinação da capacidade máxima de remoção de cocaína do meio.	59
Figura 11 - Esquema gráfico evidenciando o processo quantificação da cocaína em esgoto urbano tratado.	60
Figura 12 - Polímero de impressão molecular MIP-1S recém-sintetizado.	62

Figura 13 - Controle de temperatura e potência em função do tempo para a síntese no equipamento MW do segundo método de síntese (Tabela 3) e em 15 minutos.	63
Figura 14 - Polímero de impressão molecular MIP-10C recém-sintetizado.	64
Figura 15 - Controle de temperatura e potência em função do tempo para o método de síntese do MIP-10C e que obteve os melhores resultados.	64
Figura 16 - Espectro de absorção por FTIR dos reagentes e respectivas fórmulas moleculares e FTIR do MIP-10C sintetizado.	66
Figura 17 - Espectro de absorção por FTIR do MIP-1C sintetizado.	67
Figura 18 - Espectro de absorção por FTIR do NIP-1 sintetizado.	68
Figura 19 - Espectros de absorção por FTIR do NIP-1 e MIP-1C sobrepostos.	68
Figura 20 - Espectros de absorção por FTIR do MIP-1C e MIP-10C sobrepostos	70
Figura 21 - Análise do espectro de RMN ¹³ C do MIP-1S	71
Figura 22 - Espectro de RMN ¹³ C do NIP-1.	71
Figura 23 - Espectro de RMN ¹³ C do MIP-1S.	72
Figura 24 - Possível estrutura molecular do monômero do polímero MIP-1S com base nos espectros de FTIR e RMN ¹³ C.	73
Figura 25 - STA do NIP-1 com taxa de aquecimento de 10°C min ⁻¹ , Nitrogênio como gás de purga a um fluxo de 100mL min ⁻¹ e em cadinho de platina.	74
Figura 26 - STA do NIP-5 com taxa de aquecimento de 10°C min ⁻¹ , Nitrogênio como gás de purga a um fluxo de 100mL min ⁻¹ e em cadinho de platina.	74

Figura 27 - STA do MIP-2S com taxa de aquecimento de 10°C min ⁻¹ , Nitrogênio como gás de purga a um fluxo de 100mL min ⁻¹ e em cadinho de platina.	75
Figura 28 - DSC comparativa em função da temperatura dos polímeros NIP-1 e MIP-1C e nas mesmas condições.	75
Figura 29 - Perda de massa comparativa em função da temperatura dos polímeros NIP-1 e MIP-1C e nas mesmas condições.	76
Figura 30 - Curva de calibração para cocaína no CG-MS em condições cromatográficas descritas no item 4.2.	79
Figura 31 - Curva de dessorção de cocaína na 1ª Extração com Acetonitrila:Ácido Acético.	81
Figura 32 - Curva de dessorção de cocaína na 2ª Extração com Acetonitrila:Ácido Acético.	82
Figura 33 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 para o extrato (MeOH) do MIP-10C após 4 extrações (ACN:Ác. Acético e MeOH) evidenciando ausência de sinal analítico em TR compatível com cocaína (3,88).	85
Figura 34 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 para análise da água superficial “in natura” colhida no desastre ambiental ocorrido na cidade de Mariana (MG) e ausência de sinal analítico compatível com cocaína.	86
Figura 35 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 da água de Mariana adicionada com cocaína para 5ppm e presença de sinal analítico compatível com cocaína.	87

- Figura 36 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 da água de Mariana adicionada com cocaína para 5 mg L⁻¹ e após adição de 150 mg do MIP-10C e ausência de sinal analítico compatível com cocaína. 87
- Figura 37 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 do extrato de Metanol (3mL) após extração realizada no MIP-10C e que havia entrado em contato com água de Mariana adicionada com cocaína para 5 mg L⁻¹. 88
- Figura 38 - Amostra de esgoto urbano coletado após tratamento pela ETE e após adição de 270 mg do MIP-10C. 89
- Figura 39 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 do extrato de Metanol (3 mL) após extração realizada no MIP-10C utilizado na D-SPE para detecção de cocaína na amostra de esgoto. 90
- Figura 40 - Fragmentograma da substância detectada no tempo de retenção para cocaína (3,88min.) evidenciando os fragmentos 82,0 m/z, 182,0 m/z e o íon molecular 303,1 m/z. 90
- Figura 41 - Resultado da pesquisa no banco de dados do equipamento (Biblioteca NIST) evidenciando compatibilidade para cocaína. 91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Parâmetros físico-químicos de interesse ambiental para a molécula de cocaína, a 25 °C (Fonte: Domènech <i>et al.</i> , 2009).	32
Tabela 2 -	Primeiros parâmetros de síntese dos NIPs.	53
Tabela 3 -	Segundos parâmetros de síntese dos NIPs eMIPs.	54
Tabela 4 -	Terceiros parâmetros de síntese do MIP-10C.	54
Tabela 5 -	Rendimento em massa (mg) dos polímeros sintetizados.	61
Tabela 6 -	Medidas de área superficial BET e volume de poros para os polímeros sintetizados em potência de manutenção de 80W.	77
Tabela 7 -	Medidas de área superficial BET e volume de poros para os polímeros sintetizados em potência de manutenção de 100W.	77
Tabela 8 -	Valores obtidos para a curva de calibração.	78
Tabela 9 -	Valores obtidos para os brancos da curva de calibração.	79
Tabela 10 -	Valores de concentração de cocaína (mg L ⁻¹) em cada solução obtidos pela técnica CG-MS nas condições constantes no item 4.2.	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACN	Acetonitrila
ATR	Atenuação Total de Refletância
BET	Brunauer, Emmett e Taller
R ²	Coefficiente de regressão linear
λ	Comprimento de onda
K	Constante cinética
ONU	Organização das Nações Unidas
LLE	Do inglês, Liquid-Liquid Extraction
SPE	Do inglês, Solid Phase Extraction
D-SPE	Do inglês, Dispersive Solid Phase Extraction
SPME	Do inglês, Solid Phase Micro-Extraction
MIP	Do inglês, Molecular Imprinted Polymer
MISPE	Do inglês, Molecular Imprinted Solid Phase Extraction
MW	Do inglês, Microwave
UNODC	Do inglês, United Nations Office on Drugs and Crime
COC	Cocaína
THC	Tetrahydrocannabinol (Maconha)
HER	Heroína
MOR	Morfina
COD	Codeína
AMPH	Anfetamina
MDMA	Metilendioximetanfetamina
MET	Metadona
MDA	Metiletilmetanfetamina
BE	Benzoilecgonina
EME	Ecgonina-Metil-Ester
EDC	Do inglês, endocrine disrupting compounds
WBE	Do inglês, wastewater-based epidemiology
ETE	Estações de Tratamento de Esgoto
K _H	Constante de Henry

K _{ow}	Coeficiente de partição octanol-água
K _{oc}	Coeficiente de adsorção
pK _a	Valor negativo do logaritmo da constante de dissociação de um ácido.
pH	Potencial hidrogênio-iônico
MIT	Do inglês, Molecular Imprinted Technology
MAA	Ácido Metacrílico
EGDMA	Etilenoglicol-dimetil-acrilato
AIBN	2,2'-Azobis(2-metil-propionitrila)
CG-MS	Do inglês, Gas Chromatography - Mass Spectrometer
HPLC	Do inglês, High Performance Liquid Chromatography
FTIR	Do inglês, Fourier-transform infrared spectroscopy
DSC	Do inglês, Differential Scanning Calorimetry
TGA	Do inglês, Thermogravimetry Analysis
STA	Simultaneous Thermal Analysis
Et	Etanol
Me	Metanol
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
PFA	Polímero polifluorado
MRC	Material de Referência Certificado
CO ₂	Dióxido de Carbono
UV	Radiação Ultra-violeta
ISO	Do inglês International Standardization Organization
ABNT	Associação brasileira de Normas Técnicas
NBR	Norma Técnica Brasileira

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1	CONSUMO DE DROGAS ILÍCITAS	23
2.2	PRESENÇA NO MEIO AMBIENTE	28
2.2.1	Presença de metabólitos no meio ambiente	28
2.2.2	Epidemiologia baseada em esgoto	29
2.2.3	Monitoramento do consumo de substâncias em uma população	31
2.3	QUANTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS EM MATRIZES COMPLEXAS	35
2.4	POLÍMEROS DE IMPRESSÃO MOLECULAR	37
2.4.1	Síntese de Polímeros de Impressão Molecular	37
2.4.2	Síntese de novos polímeros utilizando energia micro-ondas (MW)	39
2.4.2.1	A radiação micro-ondas	41
3	OBJETIVOS	47
3.1	OBJETIVOS GERAIS	47
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4	EXPERIMENTAL	48
4.1	REAGENTES E SOLUÇÕES ANALÍTICAS	48
4.2	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	50
4.3	SÍNTESE DE POLÍMEROS UTILIZANDO ENERGIA MICRO-ONDAS	51
4.4	REMOÇÃO DAS MOLÉCULAS-MOLDE	55
4.5	ENSAIOS DE ADSORÇÃO E ANÁLISE EM AMOSTRA REAL	56

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1	SÍNTESE E RENDIMENTO EM MASSA	61
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS MIPs PARA COCAÍNA	65
5.2.1	Caracterização química da superfície dos materiais por FTIR	65
5.2.2	Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Carbono ¹³ C	70
5.2.3	Análises Termogravimétricas (TGA) e Calorimetrias Exploratórias Diferenciais (DSC)	73
5.2.4	Análise de Área Superficial (BET)	76
5.3	RESULTADOS DOS ENSAIOS DE ADSORÇÃO E DESSORÇÃO DE COCAÍNA	78
5.4	RESULTADO DA QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA EM AMOSTRA DE ESGOTO URBANO DE POÇOS DE CALDAS (MG)	89
6	CONCLUSÃO	93
	REFERÊNCIAS	95

1 INTRODUÇÃO

A utilização de substâncias químicas remonta à antiguidade e o consumo de drogas lícitas e ilícitas é atualmente um problema global de saúde pública que causa inúmeras consequências econômicas, políticas e sociais e vem crescendo na última década, segundo dados do Relatório Mundial sobre Drogas publicado pela Organização das Nações Unidas (ONU) em 2020 (EL ANSARI; VALLENTIN-HOLBECH; STOCK, 2015; FARR *et al.*, 2014; JONES *et al.*, 2014; UNODC, 2020).

Droga ilícita é um termo utilizado para denominar substâncias químicas que não são utilizadas no tratamento, prevenção ou cuidados com a saúde por apresentarem riscos inaceitáveis aos usuários e que por esse motivo são proibidas pelos órgãos reguladores (MCCALL *et al.*, 2016; OBSERVATÓRIO EUROPEU DA DROGA E TOXICODEPENDÊNCIA, 2019). O consumo de drogas ilícitas está diretamente relacionado a enormes prejuízos econômicos e sociais e as consequências mais relevantes são o aumento na taxa de crimes e nas despesas com tratamentos médicos (UNODC, 2020; OBSERVATÓRIO EUROPEU DA DROGA E TOXICODEPENDÊNCIA, 2019).

Entre as drogas ilícitas o consumo de Cocaína tem alta prevalência na América do Sul e a produção ilícita bateu recorde em 2017, segundo estimativas da ONU, com um aumento de 25% em relação ao ano anterior e em contrapartida a quantidade de Cocaína apreendida aumentou 13% em relação ao mesmo período (UNODC, 2020). Contudo, os dados sobre consumo de drogas ilícitas são estimados por meio de estatísticas de crimes, relatórios médicos, análise populacional integrada com produção e apreensão de drogas (VAN NUIJS *et al.*, 2011), ferramentas muitas vezes subjetivas e imprecisas (BUJAK *et al.*, 2016) e esses dados epidemiológicos são utilizados por entidades governamentais para analisar as tendências e mapear o consumo em um determinado país, cidade ou região e definir o desenvolvimento de estratégias para o planejamento de políticas públicas antidrogas (SECRETARIA NACIONAL DE POLÍTICAS PÚBLICAS SOBRE DROGAS, 2009).

Um método inovador e mais objetivo para mensurar o consumo de drogas em uma população, baseado na medição da concentração das drogas e seus metabólitos

em redes de esgoto, foi sugerido por Daughton em 2001 (DAUGHTON, 2001) e desde então a epidemiologia sanitária ou epidemiologia baseada em esgoto, seus conceitos, metodologias e técnicas estão sendo utilizadas por vários pesquisadores para mensurar o nível de consumo populacional de diversas drogas, incluindo a Cocaína (BOLEDA; GALCERAN; VENTURA, 2009; HUERTA-FONTELA *et al.*, 2008; POSTIGO *et al.*, 2010; VAN NUIJS *et al.*, 2011; ZUCCATO *et al.*, 2005; ZUCCATO *et al.*, 2008).

A determinação da concentração de analitos em redes de esgoto tem como principais desafios a complexidade da matriz e os níveis extremamente baixos dos analitos presentes nas amostras (ng L^{-1}), que muitas vezes se encontram abaixo dos limites de detecção dos métodos analíticos e, dessa forma, necessitam uma etapa de pré-concentração desses elementos nas amostras (BUJAK *et al.*, 2016). A pré-concentração pode reduzir a interferência da matriz, diminuindo ou eliminando possíveis interferentes e aumentando a concentração do analito, permitindo sua quantificação em equipamentos analíticos disponíveis atualmente.

Dentre os processos mais empregados e eficientes para o preparo de amostra e pré-concentração do analito visando a determinação de compostos orgânicos está a extração, pois possibilita a eliminação de interferentes químicos da amostra e tem potencial para isolar e concentrar o analito antes da quantificação (BUJAK *et al.*, 2016). Métodos convencionais (clássicos) de preparação de amostras, como precipitação, extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE) e micro-extração em fase sólida (SPME), têm sido amplamente utilizados para a quantificação de drogas ilícitas em diversos tipos de amostras, com destaque para as ambientais e biológicas (BOLEDA *et al.*, 2009; POSTIGO *et al.*, 2010). As técnicas de SPE e SPME ganham destaque pela seletividade, eficiência e por serem ambientalmente amigáveis, entretanto, a seletividade e a sensibilidade do processo de extração dependem do material empregado como fase sólida (BUJAK *et al.*, 2016).

O desenvolvimento de técnicas e materiais mais seletivos e eficientes que possam ser utilizados em técnicas de SPE e SPME vem sendo estudado e dentre os materiais mais inovadores, utilizados como fase sólida nas técnicas de extração e micro-extração estão os polímeros de impressão molecular (MIP), uma classe de polímeros sintéticos altamente seletivos, quimicamente, termicamente e

mecanicamente estáveis e reutilizáveis (GADZALA-KOPCIUCH *et al.*, 2009; VASAPOLLI *et al.*, 2011).

A utilização dos MIPs nos processos de SPE e SPME tem potencial de proporcionar melhorias na eficiência das técnicas e estudos recentes evidenciaram uma taxa de recuperação de 83,6% de cocaína em amostras de esgoto com a utilização da técnica de SPE empregando MIPs como fase sólida e utilizando Atropina e Escopolamina como molécula-molde (BUJAK *et al.*, 2016).

A eficiência do processo de SPE está diretamente ligada ao processo de síntese dos MIPs. Para a síntese dos polímeros, sistemas mais eficientes de aquecimento e polimerização têm potencial de melhorarem a eficiência do processo de extração seletiva e o controle de importantes parâmetros, uma vez que podem proporcionar um controle mais efetivo da estrutura, morfologia e tamanhos das partículas dos materiais (TARLEY *et al.*, 2005; ZAIDI, 2017). Dentre essas novas tecnologias de síntese dos polímeros a aplicação de energias mais eficientes, como a micro-ondas (MW) vem se destacando e é altamente recomendada por proporcionar vantagens, como baixo custo, simplicidade, pequeno volume de amostra, menor tempo, aquecimento homogêneo, movimentação iônica/polar e ambientalmente adequado (ZAIDI, 2017).

A utilização da energia micro-ondas (MW) para aquecimento e polimerização em processos de síntese de polímero de impressão molecular (MIP) pode proporcionar melhorias significativas no processo e resultar em polímeros mais eficientes, com maior capacidade de pré-concentração e morfologia mais interessante para SPE e poderia ser aplicada para quantificação de cocaína em amostras ambientais complexas, como esgoto urbano.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Dentre as diversas ferramentas que podem auxiliar cientificamente a produção de dados objetivos relacionados ao consumo de Cocaína está a Ciência Forense que aplica ciência, tais como química, física, biologia e matemática às questões jurídicas. Cada uma dessas áreas, quando aplicadas a processos civis ou criminais, deve apresentar resultados que são legal e cientificamente confiáveis (BRUNI *et al.*, 2019). Entre as várias áreas da ciência forense mencionadas, a química forense utiliza técnicas e metodologias que permitem a determinação de diferentes espécies ou moléculas químicas em diversos tipos de amostras. A análise toxicológica forense visa a detecção, identificação e quantificação de drogas, seus metabólitos e outros analitos de interesse médico-legal em amostras biológicas e ambientais (PASSAGLI, 2007).

Na maioria dos casos a determinação dessas substâncias emprega métodos/técnicas robustas e, principalmente, seletivas e sensíveis. Além de tais necessidades, o grande número de amostras complexas e os pequenos volumes de amostra dificultam ainda mais a confiabilidade, precisão e exatidão dos resultados (VAN NUIJS *et al.*, 2011). Assim, a análise de amostras biológicas e ambientais para a quantificação de drogas ilícitas é uma tarefa desafiadora e com inúmeras dificuldades a serem superadas.

Atualmente, inúmeros métodos analíticos adequados têm sido utilizados para alcançar alta eficiência de separação e baixos limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$) (BOLEDA *et al.*, 2009; POSTIGO *et al.*, 2010). Entretanto, independente da sofisticação do método de detecção, ou de quão avançado for esse processo analítico, a análise pode ser prejudicada se um método de preparo inadequado, ou pouco eficiente for utilizado. Isso porque métodos pouco adequado/eficientes de preparo de amostras podem diminuir a seletividade, piorar a sensibilidade, aumentar o erro analítico e danificar o equipamento utilizado (BOLEDA *et al.*, 2009; POSTIGO *et al.*, 2010). Assim, métodos eficientes de preparo das amostras auxiliam na confiabilidade da análise, o que é essencial e imprescindível em uma análise química e, principalmente, na análise forense (BRUNI *et al.*, 2019). A preparação de amostras tem uma grande importância no processo de análise química, pois possibilita, se realizada de forma adequada, a

eliminação de potenciais interferentes e, eventualmente, também, a pré-concentração do analito; o que é de vital importância para a determinação de substância em baixos níveis de concentração (BUJAK *et al.*, 2016).

Um método de preparação ideal visa eliminar eventuais interferências resultantes de concomitantes da amostra (matriz), que são capazes de prejudicar de forma significativa os resultados, diminuindo a precisão, exatidão e confiabilidade dos dados obtidos. Entretanto, métodos/técnicas universais de preparo de amostra, muitas vezes, não produzem bons resultados na análise de amostras complexas, devido à complexidade e peculiaridade das amostras ou tipos das mesmas. Assim, novas técnicas de preparo de amostras vêm sendo estudadas, nos últimos anos, de acordo com o tipo de amostra, tipo de equipamento utilizado para quantificação e necessidade analítica (idealmente, a preparação da amostra deve ser simples, rápida e eficaz) (AUGUSTO *et al.*, 2013; HASHEMI *et al.*, 2013; PYRZYNSKA, 2013). Um dos processos mais empregados e eficientes para o preparo de amostras visando a determinação de compostos orgânicos é a extração, pois possibilita a eliminação de interferentes químicos da amostra e tem potencial para isolar e concentrar o analito antes da quantificação. Métodos convencionais (clássicos) de preparação de amostras, como precipitação, extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE) e micro-extração em fase sólida (SPME), têm sido amplamente utilizados para a quantificação de drogas ilícitas em diversos tipos de amostras, com destaque para as ambientais e biológicas. Dentre os métodos citados a extração e a micro-extração em fase sólida se destacam na seletividade, pré-concentração e processos ambientalmente amigáveis (AUGUSTO *et al.*, 2013; HASHEMI *et al.*, 2013; ZUCCATO *et al.*, 2005).

2.1 CONSUMO DE DROGAS ILÍCITAS

Drogas ilícitas ou ilegais são substância químicas não prescritas e cuja produção, comercialização, consumo, entre outros são proibidas por legislação nacional ou por Convenções Internacionais para Controle de Drogas por apresentarem riscos inaceitáveis para utilização (OBSERVATÓRIO EUROPEU DA DROGA E TOXICODEPENDÊNCIA, 2019).

Os dados mais completos e disponíveis sobre o consumo de drogas ilícitas no mundo são compilados pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes (UNODC), órgão internacional que implementa medidas de controle e combate do uso de drogas e que defini o termo droga ilícita considerando não apenas a identidade química da substância, mas todo o seu ciclo desde a intenção da produção até o seu consumo (UNODC, 2020).

Segundo os dados publicados pelo UNODC no World Drug Report 2020 (UNODC, 2020), foi estimado que no ano de 2017, aproximadamente, 271 milhões de pessoas, 5,5% da população mundial com idade entre 15 e 64 anos usou drogas ilícitas no ano anterior e 35 milhões de pessoas sofrem com problemas de saúde relacionados ao uso de drogas ilícitas.

O consumo vem aumentando no mundo todo sendo as mais consumidas a *Cannabis*, as anfetaminas, a cocaína e o opiáceos, representando 90% do total de drogas ilícitas consumidas no mundo. O aumento constante do consumo de drogas ilícitas e a conseqüente alteração do metabolismo humano causam efeitos deletérios na economia e na saúde pública dos países (OBSERVATÓRIO EUROPEU DA DROGA E TOXICODEPENDÊNCIA, 2019). Nos Estados Unidos, onde 15% da população acima de 12 anos consumiu droga ilícita em 2016, foi estimado um prejuízo 78,5 bilhões de dólares em razão do consumo de drogas ilícitas em 2013 (SKEES *et al.*, 2018) e na Austrália o prejuízo econômico foi estimado em 8,2 bilhões de dólares australianos nos anos de 2004 e 2005 em razão de crimes relacionado ao uso de drogas, perda de produtividade e despesas médicas relacionadas ao consumo de drogas ilícitas (AIHW, 2013).

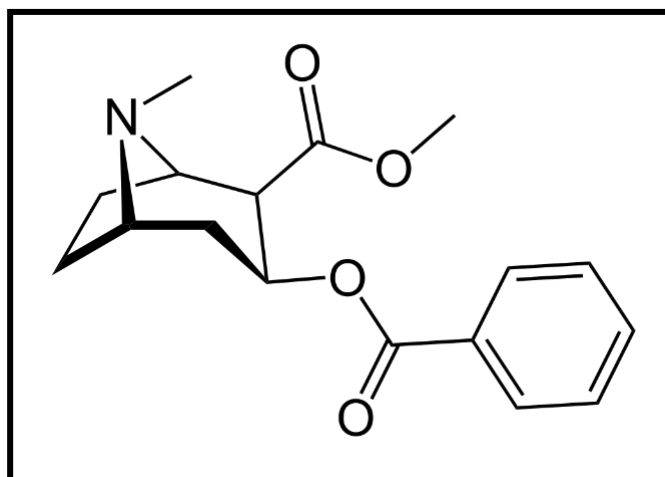
As drogas ilícitas podem ser classificadas em drogas derivadas de plantas tais como Cocaína (COC), Maconha (THC) e Heroína (HER); drogas sintéticas como Morfina (MOR), Codeína (COD), anfetamínicos como Anfetamina (AMPH), 3,4-Metilenodioximetanfetamina (MDMA), 3,4-Metilenodioxianfetamina (MDA), Metadona (MET) e outras variantes (LAI; O'BRIEN; BRUNO; HALL; PRICHARD; KIRKBRIDE; GARTNER; THAI; CARTER; LLOYD, 2016; NEFAU *et al.*, 2013; PAL *et al.*, 2013; YADAV *et al.*, 2017).

Entre as drogas derivadas de plantas existe variações nas formas de apresentação das substâncias. A cocaína é obtida a partir dos arbustos de

Erythroxylum coca (*E. coca*) que ocorre principalmente nas regiões andinas da América do Sul e após ser processada pode ser apresentada na forma de cloridrato de cocaína (pó) ou na forma de pasta base (crack ou merla) (BRUNI *et al.*, 2019; PASSAGLI, 2007).

A primeira extração de cocaína como princípio ativo foi realizada em 1855 por Friedrich Gaedecke e posteriormente, em 1959, foi isolada por Albert Nieman e denominada cocaína. A molécula, cuja estrutura química é mostrada na Figura 1, apresentou atividade farmacológica como agente simpatomimético, estimulando a liberação de noradrenalina e inibindo a recaptção nas terminações nervosas adrenérgicas (WEISS *et al.*, 1994). Seu uso farmacológico foi muito difundido no século XIX para tratamento de dependência do ópio, depressão e fadiga e durante a Segunda Guerra Mundial tornou-se mais frequente sendo considerada uma droga potencialmente abusiva e causando dependência aos usuários, começou a ser proibida, o consumo caiu drasticamente e quase desapareceu. A partir dos anos 1960 observou-se uma retomada no consumo, como droga recreativa e atualmente vive-se o pico de uma nova epidemia (BAILEY, 1996).

Figura 1 - Estrutura química da cocaína metil-[1R-(exo,exo)]-3-(benzoiloxi)-8-metil-8-azabicyclo [3,2,1]-octano-2-carboxilato.



Fonte: Do autor.

As fronteiras terrestres do Brasil com os maiores produtores da droga (Colômbia, Bolívia e Uruguai) e a extensa costa acessível ao oceano Atlântico torna o Brasil um país central no mercado global dessa droga, tanto como um país de consumo como de distribuição mundial da droga (UNODC, 2020). O papel ativo no mercado global, a alta prevalência de consumo na América Latina e no Brasil bem como os efeitos deletérios severos no organismo humano determinaram a escolha da cocaína como a droga objeto dos estudos do presente trabalho.

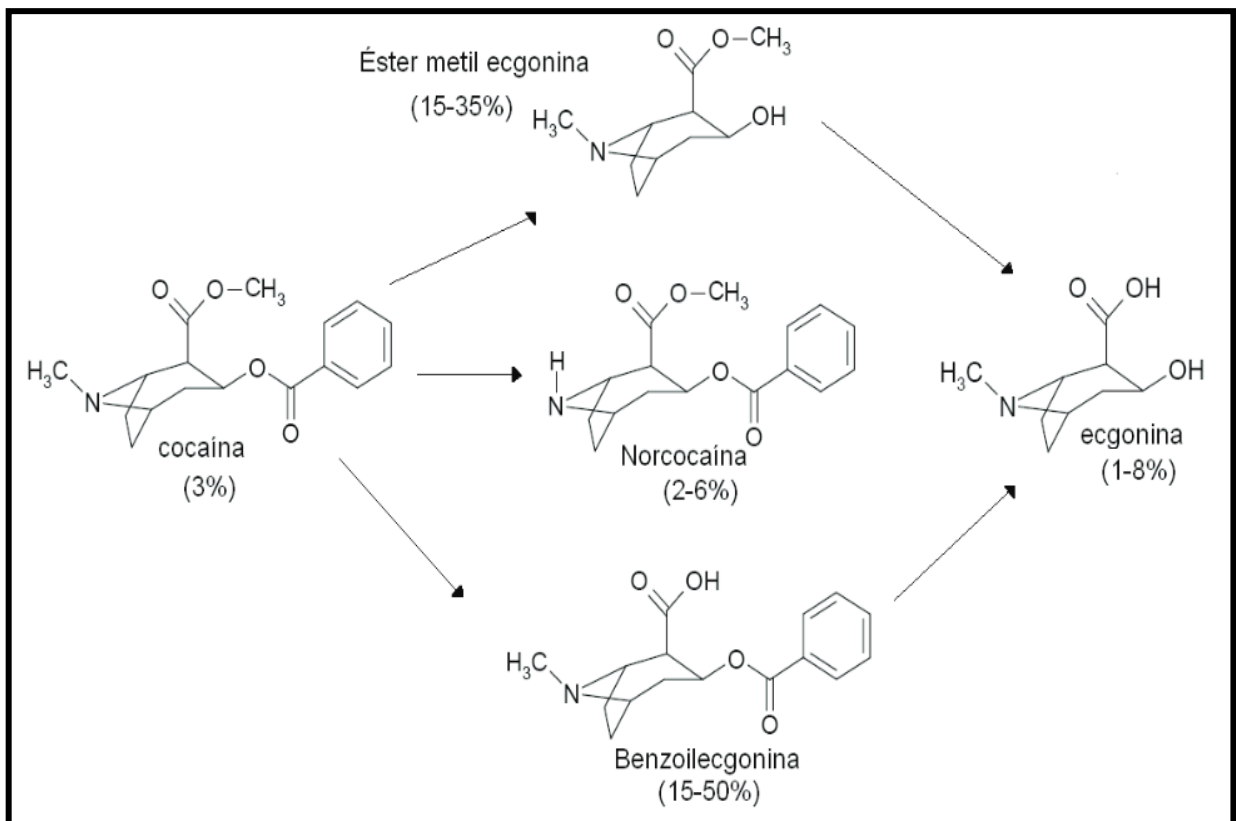
Na América Latina a cocaína tem alta prevalência de consumo e dados indicam um aumento de consumo na Europa Central e Ocidental e 19 milhões de pessoas no mundo consumiram a droga em 2017 (UNODC, 2020). Em relação ao Brasil dados do Relatório Brasileiro sobre Drogas indicam aumento no consumo de Cocaína nas 108 cidades com mais de 200 mil habitantes e no ano de 2005, 3,8% da população dessas cidades brasileiras utilizaram cocaína, crack ou merla na vida e a faixa etária de maior prevalência é a faixa etária economicamente ativa (25 a 34 anos) (SECRETARIA NACIONAL DE POLÍTICAS SOBRE DROGAS, 2009).

O consumo e a produção mundial de drogas ilícitas vêm aumentando significativamente nas últimas décadas em uma proporção maior que a população e o conhecimento sobre o padrão de consumo de uma determinada droga ilícita por uma população é essencial para o desenvolvimento de ações para a redução desse problema (KRIZMAN-MATASIC *et al.*, 2019).

Para a obtenção desses dados geralmente são utilizados relatórios médicos, entrevistas com usuários, estatísticas de crimes e dados sobre apreensão e produção de drogas (ASIMAKOPOULOS; KANNAN; MUROTA; KONDO; FUJIWARA; TSUZUKI, 2016; BAKER *et al.*, 2014; TERZIC *et al.*, 2010 YADAV *et al.*, 2017). Mesmo que informações valiosas possam ser obtidas por essas ferramentas, estimar o consumo de drogas ilícitas por meio de dados estatísticos não é a forma mais confiável para obtenção de informações tão importantes, além de apresentar diversos problemas como a alta quantidade de dados necessários, tempo e complexidade das análises, custos elevados, problemas éticos, variabilidade populacional e os dados produzidos não serão confiáveis (BIJLSMA *et al.*, 2009; CASTIGLIONI *et al.*, 2008; KESHAVIAH *et al.*, 2016).

Após o uso, a cocaína é metabolizada e eliminada pelo organismo humano por meio da urina e que, em grande parte, é transportada até a rede de esgoto (VAN NUIJS *et al.*, 2011). Durante o processo de metabolização, pelo corpo humano, a cocaína é parcialmente convertida em duas moléculas principais: Benzoilecgonina (BE) e Ecgonina-Metil-Ester (EME) que então são eliminadas na urina na proporção de 15% a 50% e 15% a 35% da dose consumida, respectivamente; e apenas uma pequena fração (1 a 9%) da dose consumida é eliminada na forma de Cocaína. Os demais metabólitos incluem Norbenzolecgonina, Norcocaína, Cocaetileno, Ecgonina, Anidroecgonina e Anidroecgonina-Metil-Ester (BASELT, 2004; BUJAK *et al.*, 2016; COGNARD *et al.*, 2005; GOMES, 2010; PAVLOVA *et al.*, 2004). A Figura 2 mostra os principais metabólitos da biotransformação da cocaína (COGNARD *et al.*, 2005; PAVLOVA *et al.*, 2004).

Figura 2 - Principais produtos da biotransformação da cocaína.



Fonte: GOMES *et al.* (2010, p. 7)

2.2 PRESENÇA NO MEIO AMBIENTE

A redução da poluição ambiental é uma meta global e nas últimas décadas muitos estudos têm sido desenvolvidos para analisar esse problema e encontrar alternativas para reduzir o impacto dos poluentes no meio ambiente. Dentre os poluentes ambientais estudados na última década destacam-se os micropoluentes, que são substâncias químicas sintéticas ou biológicas descartadas no meio-ambiente pela rede de esgoto, pela contaminação do solo, das águas superficiais ou subterrâneas utilizadas como fonte de captação de água e cuja concentração encontram-se em níveis extremamente baixos, na faixa de partes por bilhão ($\mu\text{g L}^{-1}$) ou partes por trilhão (ng L^{-1}) o que dificulta as análises químicas e o tratamento (MURRAY *et al.*, 2012).

Mesmo em concentrações extremamente baixas vários estudos de campo e laboratoriais evidenciam que mesmo em níveis baixos esses compostos podem se acumular no ambiente aquático e afetar o crescimento e desenvolvimento dos organismos (MURRAY *et al.*, 2012).

2.2.1 Presença de metabólitos no meio ambiente

Dentre os diversos micropoluentes que causam várias alterações no meio ambiente há de se destacar, do ponto de vista médico, a classe dos disruptores endócrinos (EDC's, sigla em inglês para *endocrine disrupting compounds*) que são uma classe de compostos químicos que interferem no sistema hormonal, alterando a homeostase endócrina e causando distúrbios na vida selvagem e no homem. Estudos recentes sugerem que os EDC's aumentam os riscos para diversas desordens dos sistemas imune, reprodutor, hormonal e neural (YANG *et al.*, 2006).

Os efeitos a longo prazo desses contaminantes emergentes são desconhecidos, mas há indícios que o aumento no câncer de próstata, pulmão e testículo nos últimos 40 anos está relacionado à presença dos EDC's no meio-ambiente (ASHBY *et al.*, 2011; GILLESBY *et al.*, 1998).

O impacto dos micropoluentes no ecossistema aquático é muito maior que na saúde humana pela exposição contínua a esses compostos e a presença de EDC's no meio-ambiente aquático está relacionado ao aumento na proporção de fêmeas em relação a machos (BÖGI *et al.*, 2003), atraso na primeira desova reduzindo a taxa de fecundação (SEGNER *et al.*, 2003), redução na qualidade dos gametas e alteração de sexo não natural (HELFMAN, 2007).

A definição dos EDC's permite classificar a cocaína como tal e não foram encontrados estudos sobre o impacto a longo prazo do acúmulo de cocaína e seus metabólitos no ecossistema aquático bem como as consequências a longo prazo no homem do consumo de água ou produtos contaminados por esses micropoluentes.

A cocaína após ser consumida, independentemente da forma de administração, é metabolizada pelo organismo e eliminada na urina sob a forma de moléculas mais polares que o composto parental (metabólitos) ou inalterada devido à metabolização incompleta e entram na rede de esgoto seja de forma inalterada, como metabólito ou conjugada a outras moléculas (LI *et al.*, 2016).

A cocaína ou seus metabólitos eliminados no esgoto podem ser quantificados por meio de análises químicas do esgoto urbano e utilizada como indicador do consumo populacional ou exposição a drogas ilícitas por uma determinada população, uma ciência conhecida como epidemiologia baseada em esgoto (WBE, sigla em inglês para *wastewater-based epidemiology*) (GRACIA-LOR *et al.*, 2016).

2.2.2 Epidemiologia baseada em esgoto

A epidemiologia baseada em esgoto é uma ciência em desenvolvimento em todo o mundo e utilizada como método para se estimar a quantidade de droga ilícita consumida em uma determinada comunidade (DAGLIOGLU *et al.*, 2019; KUMAR *et al.*, 2019; MCCALL *et al.*, 2016).

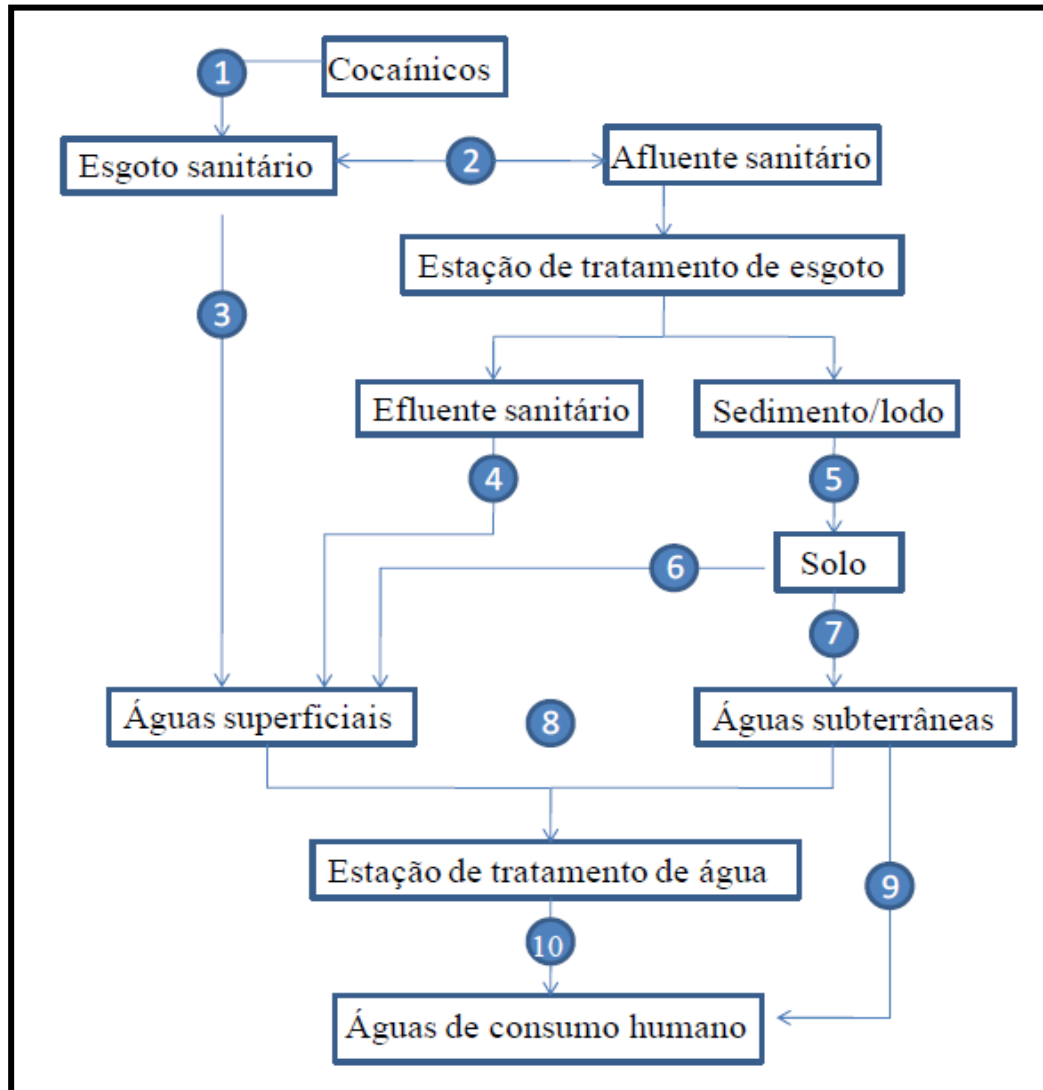
Após ser sugerida por Daughton em 2001 (DAUGHTON, 2001) a epidemiologia baseada em esgoto foi primeiramente implementada em 2005 por Zuccato *et al.* (ZUCCATO *et al.*, 2005) em várias cidades italianas e desde então vem

se expandindo pelo mundo. Trata-se de uma forma compreensível, economicamente viável e proporciona medições em tempo real do consumo de drogas alvo por uma determinada comunidade por meio da quantificação destas drogas ou metabólitos na rede de esgoto (FOPPE *et al.*, 2018; SKEES *et al.*, 2018; VAN NUIJS *et al.*, 2011). Aliado a isso a WBE não determina a quantidade de droga ilícita consumida por uma pessoa em particular, mas o consumo populacional, o que produz dados anônimos e de forma mais ética (CASTIGLIONI, 2016).

A cocaína e seus metabólitos (cocaínicos) atingem os compartimentos ambientais conforme Figura 3, primeiramente, por meio da rede de esgoto sanitário (rota 1) que pode atingir diretamente as águas superficiais (rota 3) ou chegar até a estação de tratamento de esgoto através dos afluentes sanitários (rota 2). Em casos de tratamento ineficiente os cocaínicos podem atingir águas superficiais pelo efluente sanitário (rota 4) ou se depositar no sedimento/lodo e contaminar o solo (rota 5) e conseqüentemente as águas subterrâneas (rota 7) ou atingir as águas superficiais por lixiviação (rota 6). As águas contaminadas, superficiais ou subterrâneas chegam ao consumo humano (rotas 8, 9 e 10) (CAMPESTRINI, 2015; FEITOSA *et al.*, 2016).

Estudos comprovam que o tratamento de esgoto é muitas vezes ineficaz para drogas ilícitas e, conseqüentemente, a contaminação dos corpos aquáticos por drogas ilícitas pode ocorrer por lançamento dos efluentes das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) ou pela deposição do lodo residual no solo (POSTIGO *et al.*, 2010; SNYDER *et al.*, 2016).

Figura 3 - Ilustração com possíveis vias de transporte da cocaína no ambiente;



Fonte: CAMPESTRINI (2015, p. 9) adaptada de FEITOSA *et al.*, 2013.

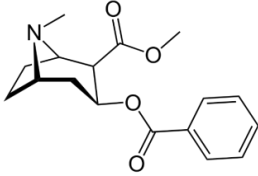
2.2.3 Monitoramento do consumo de substâncias em uma população

O estudo sobre presença de drogas ou metabólitos no ambiente ganhou força na última década sendo os estudos sobre cocaína e seus metabólitos (cocaínicos) os mais disponíveis na literatura entre as drogas ilícitas. Há estudos sobre a presença de cocaína ou metabólitos na rede de esgoto sanitário, águas superficiais, lodo de ETE, água utilizada para abastecimento público e, em menor grau, no ar atmosférico e, devido à alta frequência de detecção no ambiente a cocaína é atualmente considerada um contaminante emergente (CECINATO; BALDUCCI; NERVEGNA, 2009; HUERTA-

FONTELA *et al.*, 2008; JONES-LEPP *et al.*, 2007; KALETA *et al.*, 2006; ZUCCATO *et al.*, 2005; ZUCCATO *et al.*, 2008).

Inúmeros fatores influenciam na ocorrência de cocaínicos em amostras ambientais tais como as propriedades físico-químicas da molécula e do meio, prevalência de consumo, sazonalidade, ineficiência de remoção das estações de tratamento de água e esgoto, entre outras (DOMÈNECH *et al.*, 2009). A Tabela 1 apresenta algumas características físico-químicas de interesse ambiental da cocaína e com base nesses parâmetros é possível prever a distribuição da cocaína no ar/água/matéria orgânica.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos de interesse ambiental para a cocaína, a 25°C.

Parâmetro	Cocaína
Estrutura	
K_H (mol m ⁻³ atm ⁻¹)	$7,9 \times 10^{-13}$
Log Kow	2,65
Koc (L kg ⁻¹)	19
pKa	8,6

Fonte: DOMÈNECH *et al.* (2009, p. 5239)

O grau de volatilização da Cocaína, avaliada com base na constante de Henry (K_H), mostra uma tendência muito baixa de transferência da fase líquida para a fase vapor embora alguns estudos tenham demonstrado a presença de cocaína no ar atmosférico de algumas cidades em níveis de pg m⁻³ ou menor (CECINATO *et al.*, 2009). Concentrações mais elevadas de cocaína tem sido encontradas em fase líquida de matrizes ambientais, em níveis de ng L⁻¹ e µg L⁻¹ devido ao baixo grau de bioacumulação ou adsorção da cocaína no ambiente aquático, demonstrado pelas constantes Kow e Koc, respectivamente.

O pH do meio (água ou esgoto) influencia a dissociação da molécula e está diretamente relacionada ao grau de afinidade pela fase aquosa ou fase orgânica (fase sólida do esgoto). Com base no pKa da cocaína e no pH das águas naturais, entre 4 e 9 (FEITOSA *et al.*, 2016) pode-se inferir que a cocaína se encontra ionizada em águas naturais e a afinidade pela fase orgânica (sólida) é reduzida. Estudos comprovaram que a presença de cocaína na fase aquosa e no sedimento de esgotos sanitários evidenciaram uma adsorção de cocaína no sedimento de 1,4% a 2,0%. Devido a maior afinidade da cocaína pela fase aquosa, os estudos concentram-se em matrizes aquáticas e a adsorção na matéria orgânica pode ser negligenciada (BAKER *et al.*, 2011a; BAKER *et al.*, 2011b; METCALFE *et al.*, 2010).

Partindo da premissa que no esgoto sanitário há o conjunto das excretas urinárias dos usuários de uma determinada droga atendidos pela rede conectada à Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) a determinação desta droga/metabólito no afluente sanitário coletado em uma ETE reflete o consumo dessa droga pela população atendida pela rede da ETE.

Para o cálculo da estimativa de consumo são necessários dados referentes à concentração do analito no afluente sanitário e dados da ETE, como vazão média diária do afluente, número de habitantes atendidos pela ETE além de dados sobre a excreção urinária da droga analisada, uma vez que a droga presente no esgoto é resultado do metabolismo humano (ZUCCATO *et al.*, 2005).

Há inúmeras variáveis presentes na estimativa de consumo de drogas por meio da epidemiologia baseada em esgoto, entretanto, para torná-la mais precisa e confiável, métodos mais eficientes de quantificação muitas vezes são necessários. Para isso técnicas de pré-tratamento das amostras e pré-concentração do(s) analito(s), estimativa do número de pessoas atendidas pela rede da Estação de Tratamento de Esgoto, procedimento de amostragem do afluente sanitário, sazonalidade, estabilidade das moléculas analisadas, vazão do afluente, entre outros são essenciais para um resultado representativo (CASTIGLIONI *et al.*, 2013; VAN NUIJS *et al.*, 2011; VAN NUIJS *et al.*, 2012).

Além das variáveis acima descritas uma importante lacuna ainda não esclarecida é o estabelecimento das proporções dos metabólitos biomarcadores e demais subprodutos da metabolização das drogas no organismo dos usuários. A

ampla variabilidade individual na metabolização das drogas e excreção urinária dos usuários é frequentemente tema de discussões sobre a epidemiologia baseada em esgoto e é o principal desafio para esta nova abordagem (CASTIGLIONI *et al.*, 2013; CASTIGLIONI *et al.*, 2014; MATHIEU *et al.*, 2011).

Baseado nessa grande lacuna não esclarecida e devido à grande variabilidade de metabolização entre indivíduos o presente trabalho buscou desenvolver um Polímero de Impressão Molecular (MIP) utilizando a Cocaína (COC) como molécula alvo e não seu metabólito Benzoilecgonina (BE), mais comumente utilizado para cálculo de estimativa de consumo populacional por ser uma molécula mais estável e excretada em maior proporção pelo organismo, quando comparada aos demais metabólitos (CASTIGLIONI *et al.*, 2011).

A escolha da cocaína (COC) como molécula alvo no presente estudo para a síntese do MIP em detrimento ao metabólito Benzoilecgonina (BE) tem como fundamento a possibilidade de utilização do polímero de forma mais ampla, uma vez que será possível, além da estimativa de consumo através de ajustes nos cálculos, a detecção da droga de forma mais abrangente em diversas matrizes, com grande possibilidade de aplicações forenses e não apenas para detecção e monitoramento de consumo como no caso dos metabólitos.

O cálculo para estimar o consumo de cocaína em uma determina população por meio da epidemiologia baseada em esgoto é rotineiramente representado por equações que utilizam dados da concentração do analito de interesse no afluente sanitário da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), a vazão do aporte de afluente na ETE estudada, as massas molares da molécula originalmente ingerida e o metabólito eliminado, a porcentagem do analito de interesse absorvida pelo organismo e excretada como metabólito e o número de habitantes atendidos pela ETE estudada (FEITOSA *et al.*, 2016).

2.3 QUANTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS EM MATRIZES COMPLEXAS

A identificação e quantificação de analitos, em baixas concentrações, em matrizes complexas sempre foi um grande desafio para a química analítica e para eliminar as interferências da matriz na identificação e quantificação é necessário um adequado e eficiente método de preparo da amostra.

Métodos convencionais (clássicos) de preparação de amostras, como a precipitação e a extração líquido-líquido (LLE); é métodos modernos de preparo, como a extração em fase sólida (SPE), extração em fase sólida dispersiva (D-SPE) e micro-extração em fase sólida (SPME), têm sido amplamente utilizados para a quantificação de drogas ilícitas em diversos tipos de amostras, com destaque para as ambientais e biológicas.

Dentre os métodos mais empregados e eficientes para determinação de compostos orgânicos em matrizes complexas está a extração química, pois possibilita a eliminação de interferentes químicos da amostra e tem potencial para isolar e concentrar o analito antes da quantificação, com destaque para a Extração em Fase Sólida (SPE) e a Micro-extração em Fase Sólida (SPME) (BASELT, 2004; BUSZEWSKI *et al.*, 2014; ZUCCATO *et al.*, 2005). A SPE baseia-se na partição do analito entre a fase líquida e a fase sólida por meio da adsorção do analito na fase sólida devido à suas características físico-químicas e cuja interação se dá pelas características hidrofílicas ou hidrofóbicas, de sua estrutura molecular, com as características da fase sólida presente na coluna de extração (HASHEMI *et al.*, 2013). Posteriormente, utiliza-se uma solução eluente adequada e recupera-se o analito alvo em um pequeno volume, o que resulta na desejada pré-concentração analítica (HASHEMI *et al.*, 2013) e diminuição de possíveis interferentes, presentes na matriz original, possibilitando a quantificação do analito em baixas concentrações.

A SPE foi inicialmente desenvolvida como um complemento, ou substituição para extração líquido-líquido (LLE), uma técnica muito comum de preparo de amostra. A extração em fase sólida é uma das técnicas de preparo mais utilizadas atualmente devido a vantagens como configuração simples, baixo custo, alta recuperação e fator de enriquecimento e a possibilidade de automatização de todo o processo. Outro modo de extração com excelentes resultados é a micro-extração em fase sólida

(SPME) que possibilita realizar medições rápidas em pequenos volumes de amostra, automação, alto rendimento e acoplamento online com instrumentos de detecção.

A SPME é uma técnica popular de preparação de amostras com eficácia consolidada (HASHEMI *et al.*, 2013). É uma técnica de extração flexível, não exaustiva, adequada para uma variedade de matrizes. A SPME permite facilmente isolar/concentrar analitos de interesse antes da quantificação instrumental. A técnica é aplicável a praticamente todas as classes de compostos orgânicos, como evidenciado pelo grande número de estudos publicados a cada ano. As técnicas de micro-extração podem ser agrupadas em três grandes categorias, entretanto a micro-extração com sorvente têm se destacado.

As técnicas de extração em fase sólida possuem alta eficiência e são altamente reprodutíveis, entretanto, alguns desafios importantes, como a inadequada seletividade e baixa sensibilidade são observadas, uma vez que, para alguns analitos e amostras os materiais sorventes não proporcionam uma adsorção seletiva e baixos fatores de enriquecimento. Assim, o desenvolvimento de materiais (sorventes) mais específicos e seletivos para os processos de extração se faz necessário, bem como o desenvolvimento de novos processos, com maior eficiência é essencial para a melhor aplicação da técnica (BUSZEWSKI *et al.*, 2014).

Uma tendência atual em SPE e SPME é o uso de materiais poliméricos disponíveis comercialmente. A estabilidade dos polímeros em uma ampla faixa de pH o torna bastante atraente em comparação com os materiais à base de sílica. Materiais poliméricos como os copolímeros ou polímeros funcionalizados são interessantes para a extração seletiva de drogas de abuso em várias matrizes biológicas e ambientais. Um importante avanço na tecnologia SPE foi o desenvolvimento de polímeros de impressão molecular (MIPs) associados à SPE (MISPE). Os MIPs são materiais poliméricos sintéticos com alto reconhecimento específico para moléculas alvo (analitos) (BUSZEWSKI *et al.*, 2014).

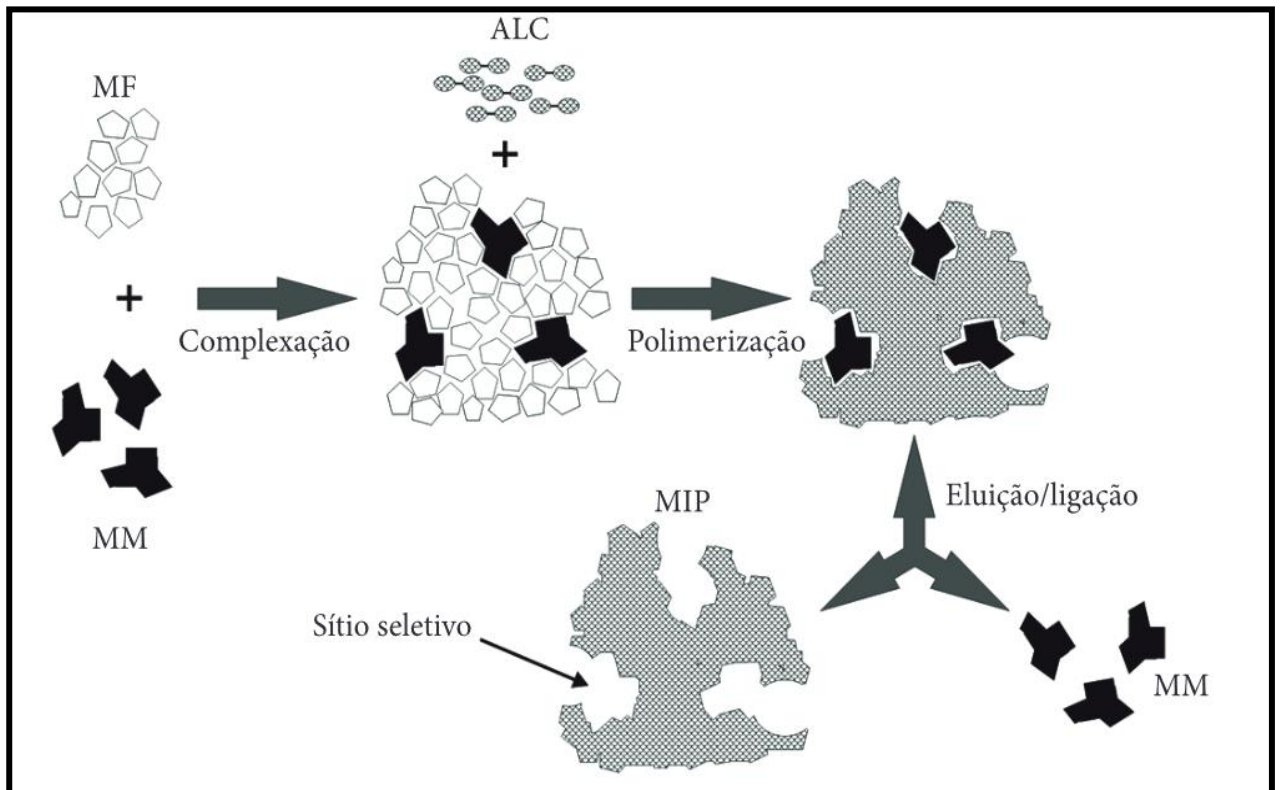
2.4 POLÍMEROS DE IMPRESSÃO MOLECULAR (MIP)

A escolha das fases líquida e sólida a serem utilizadas no processo de Extração em Fase Sólida (SPE) é fator preponderante para o sucesso do processo, principalmente, para amostras cuja molécula alvo encontra-se em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$. Nos últimos anos diversos materiais têm sido desenvolvidos para utilização como fase sólida em processos de extração (SPE ou SPME) (AUGUSTO *et al.*, 2013; PYRZYNSKA, 2013;); com maior ou menor seletividade, dependendo do analito (extraído) e dentre os materiais mais inovadores os Polímeros de Impressão Molecular (MIP) ganharam grande destaque na última década (HASHEMI *et al.*, 2013; ZAIDI, 2017;). Trata-se de uma classe de polímeros sintéticos altamente seletivos, quimicamente, termicamente e mecanicamente estáveis e reutilizáveis. (GADZALAKOPCIUCH *et al.*, 2019; VASAPOLLI *et al.*, 2011). A síntese dos MIP's, por meio da reação da molécula alvo ('template') com um monômero, na presença de um ligante cruzado, produz sítios (cavidades) tridimensionais com ligações específicas para a molécula alvo e que, após a polimerização, resulta em alta seletividade (HASHEMI *et al.*, 2013).

2.4.1 Síntese de Polímeros de Impressão Molecular

A Impressão Molecular é definida como a reação de polimerização que fixa, estrategicamente, monômeros funcionais ao redor de uma molécula modelo de acordo com os grupos ligantes e com a estereoquímica de ambas as moléculas (SANTOS *et al.*, 2012). A construção dos ligantes com sítios de reconhecimento seletivo em polímeros sintéticos forma um "molde" (átomo, íon, molécula, complexo ou molecular, iônico ou macromolecular, incluindo micro-organismos) que é empregado a fim de facilitar a formação do local de reconhecimento durante a montagem da fase por uma polimerização com posterior remoção de alguns ou todo o molde (analito) proporcionando espaços desocupados pelas espécies molde (SANTOS *et al.*, 2012).

Figura 4 - Ilustração genérica do processo de síntese do MIP, onde MF é o monômero funcional; MM é a molécula modelo e ALC é o agente de ligação cruzada.



Fonte: SANTOS *et al.* (2012, p. 163)

Desde os primeiros trabalhos, usando sílica como sorvente, até a aplicação de polímeros de impressão molecular; o desenvolvimento contínuo de diferentes formas estruturas, processo de preparação e caracterização, tem demonstrado, nos últimos anos, importância da tecnologia de impressão molecular (MIT) e o amplo interesse da comunidade científica no tema. No processo de impressão molecular, a formação de complexos de interação entre a molécula de interesse (molde) e os monômeros funcionais na presença de um reticulador e um solvente porogênico, permitem a produção de locais específicos dentro do material polimérico que são física e quimicamente complementares ao molde. Depois de remover o molde, a cavidade é capaz de se ligar seletivamente a molécula alvo na aplicação final de MIP. O mecanismo de reconhecimento pode ser mediado por diferentes interações, como interações de ligações de hidrogênio não covalentes fracas, emparelhamento de íons, hidrofóbico, ou interações dipolares. Além disso, os MIPs podem ser preparados de acordo com diferentes abordagens, ou seja, não covalente, covalente e semi-

covalente, que diferem na forma como o modelo interage com o monômero funcional e com os locais de ligação polimérica na aplicação final. Os tamanhos de partículas podem variar de nano à micro, de partículas irregulares a esféricas.

Muitos avanços nos processos sintéticos estão sendo estudados nos últimos anos, no entanto, a metodologia de impressão molecular ainda usa grandes quantidades de solventes e processos com várias etapas, e isso tem contribuído negativamente para a aplicação de MIPs em escala industrial.

Recentemente, devido as boas propriedades térmicas, estabilidade química, grande área de superfície e notáveis propriedades físicas e químicas, materiais nano-estruturados têm sido usados na ciência de separação e são adequados como sorventes (VASAPOLLI *et al.*, 2011). Entretanto, técnicas convencionais de preparo dos MIPs, muitas vezes resultam em materiais menos eficientes, com baixas áreas superficiais, poucos sítios para o acesso da molécula alvo e métodos lentos e morosos. Assim, técnicas/métodos modernas de sínteses de MIPs, que melhoram a eficiência do processo de extração seletiva, por meio de sistemas mais eficientes de aquecimento e polimerização, com controle de importantes parâmetros, são indicados e devem ser avaliados. Dentre essas novas tecnologias de síntese a aplicação de energias mais eficientes, como a micro-ondas e o ultrassom vem se destacando e são altamente recomendadas, por proporcionar vantagens únicas, como baixo custo, simplicidade, pequeno volume de amostra e menor tempo (ZAIDI, 2017).

Atualmente, processos ambientalmente adequados são recomendados, devem atender à sustentabilidade e esses princípios podem ser aplicados em todo o ciclo de produção, desde sua concepção, fabricação, uso, até sua disposição final.

2.4.2 Síntese de novos polímeros utilizando energia micro-ondas (MW)

A polimerização pode ser obtida por diversas técnicas, como a inicialização em altas temperaturas, utilização de fluido supercrítico de CO₂, utilização de Líquidos Iônicos, empregando o ultrassom ou fotoquimicamente [radiação ultravioleta (UV) ou Micro-ondas (MW)] (TARLEY *et al.*, 2005). A polimerização empregando energia MW

surge como uma tecnologia limpa e alternativa para síntese de MIP por apresentar uma redução no uso de solventes e no tempo de polimerização (BRUNI *et al.*, 2019).

Métodos e energias alternativas para a síntese do MIP podem diminuir significativamente os custos, tempo e periculosidade do preparo. O uso de energias mais eficientes pode superar muitas das desvantagens das metodologias de produção tradicionais e produzir materiais mais seletivos e “inteligentes” o que pode proporcionar materiais mais seletivos e sensíveis para o preparo de amostras e quantificação de diferentes analitos.

A síntese de polímeros assistida por micro-ondas possibilita que a polimerização ocorra em temperaturas mais controladas e um aquecimento homogêneo do meio reacional o que interfere diretamente na nucleação, crescimento e distribuição das partículas (KUMAR *et al.*, 2020). Trata-se de uma técnica interessante por ser relativamente simples e sem impactos ao meio ambiente além de oferecer a possibilidade de crescimento controlável para produção de polímeros, nanopartículas e filmes (BARUAH *et al.*, 2009).

A aplicação de energias micro-ondas (MW) na síntese de MIP possibilita uma grande diminuição do tempo exigido no processo de polimerização, normalmente menos de 10% comparado ao aquecimento convencional (ZAIDI, 2017) e esse aquecimento ocorre, dependendo do material e do solvente, por polarização dipolar ou condução iônica, que por sua vez produz um relaxamento eletrônico permitindo a interação onda-matéria. A escolha do solvente é determinante uma vez que contribui para transformação da energia eletromagnética (radiação MW) em energia térmica, em uma determinada frequência, agindo como facilitador do aquecimento do meio e, conseqüentemente, influenciado na morfologia, estrutura e tamanho do material resultante da síntese (KUMAR *et al.*, 2020).

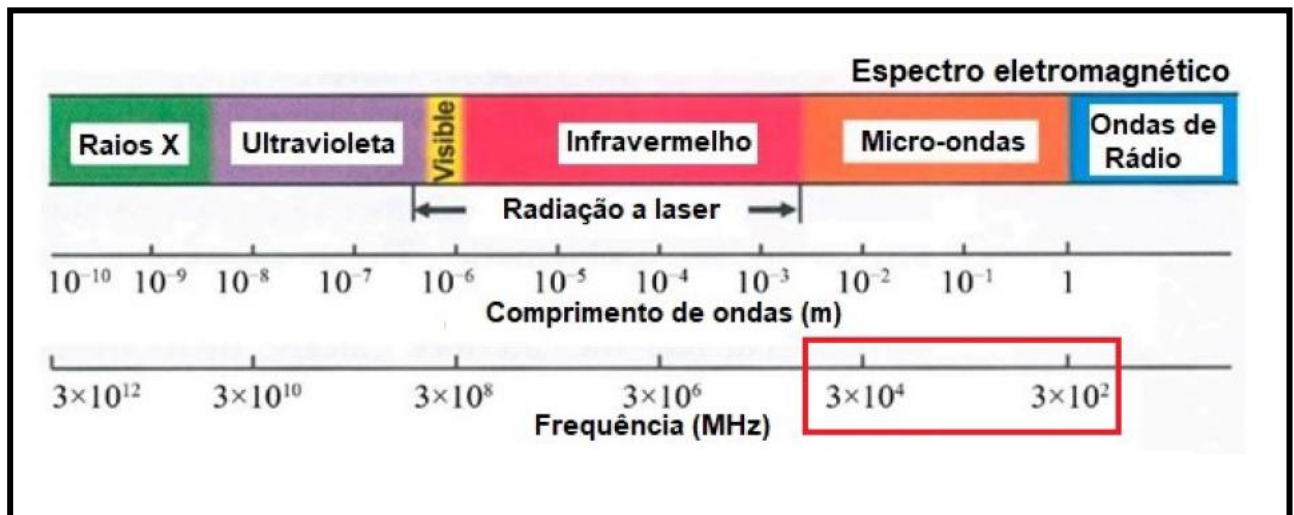
A síntese polimérica assistida por micro-ondas resulta em produtos ambientalmente amigáveis uma vez que reduzem as etapas de purificação e melhoram o rendimento da produção, características compatíveis com a química verde (KUMAR *et al.*, 2020).

2.4.2.1 A radiação micro-ondas

O avanço das pesquisas com energia micro-ondas só foi possível nos últimos anos com o advento de equipamentos específicos de micro-ondas, diminuindo a utilização do micro-ondas convencional doméstico o que permitiu o aumento no número de pesquisas envolvendo o método (KAPPE, 2004).

A radiação micro-ondas é uma radiação eletromagnética com comprimento de onda na faixa de 1mm a 1m e uma frequência entre 300MHz e 300GHz, entre o infravermelho e a radiofrequência (Figura 5).

Figura 5 - Representação do espectro eletromagnético.



Fonte: Adaptado de RANA *et al.* (2014, p. 3)

A faixa adequada de comprimento de onda permite o aquecimento e mantém a integridade da estrutura do material. As micro-ondas não possuem energia suficiente para quebrar ligações químicas e, dessa forma, a estrutura das moléculas não é alterada durante o processo de síntese (KUMAR *et al.*, 2020; RANA *et al.*, 2014; WOJNAROWICZ *et al.*, 2020).

Os equipamentos de micro-ondas operam na frequência de 2,45GHz, como padronização para evitar interferências no ambiente, o que produz emissões em

comprimentos de onda (λ) de 12,24cm e energia de fóton de 0,0016. Essas condições são capazes de gerar calor uma vez que se encontram em frequência intermediária entre o alinhamento dos íons ou dos dipolos no campo elétrico resultante da emissão das micro-ondas e o retorno (realinhamento) das moléculas ao campo elétrico cria um campo oscilatório necessário para a geração de calor no processo (KAPPE, 2004; RANA *et al.*, 2014; WOJNAROWICZ *et al.*, 2020).

A interação da radiação por micro-ondas com a matéria produz efeitos térmicos no meio, como o aquecimento (BILECKA *et al.*, 2008) e a eficiência depende dessa interação (KUMAR *et al.*, 2020).

A frequência de operação do equipamento gera dipolos elétricos e pode gerar, também, condução iônica, onde o calor é gerado pela colisão dos íons que se movimentam para frente e para trás (KUMAR *et al.*, 2020; RANA *et al.*, 2014; WOJNAROWICZ *et al.*, 2020).

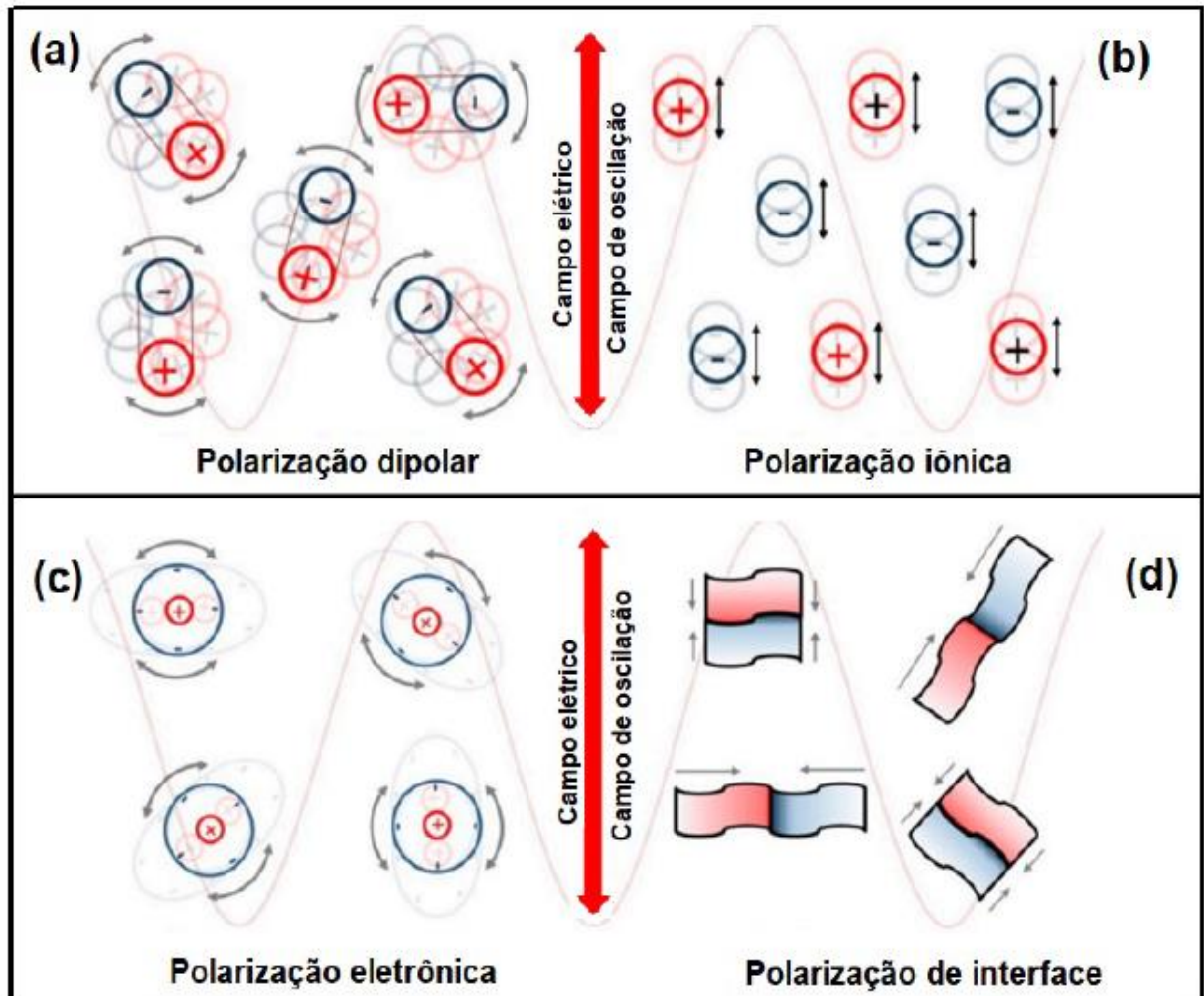
O aquecimento do processo ocorre, conseqüentemente, pela interação da radiação de micro-ondas com as moléculas polares, e onde há a conversão da energia do campo eletromagnético produzida pela radiação em energia cinética (calor) (RANA *et al.*, 2014; WOJNAROWICZ *et al.*, 2020;).

A radiação eletromagnética emitida pelos equipamentos pode gerar micro-ondas de quatro formas (Figura 6): Por polarização dipolar (Figura 6a - rotação de dipolos), polarização iônica (Figura 6b - condução iônica), polarização atômica (Figura 6c - polarização eletrônica) e polarização de superfície (Figura 6d - polarização de interface) e durante o processo podem ocorrer uma ou mais ou mesmo todos os fenômenos simultaneamente (RANA *et al.*, 2014; WOJNAROWICZ *et al.*, 2020).

O processo de geração de micro-ondas por rotação (Figura 6a) converte a energia eletromagnética das micro-ondas em energia cinética, que faz com que as espécies colidam umas com as outras, distribuindo o calor uniformemente e resultando em um aumento rápido da temperatura. A condução iônica (Figura 6b) ocorre em soluções contendo íons que se movimentam em direção ao campo elétrico variável, gerando colisão entre os íons e gerando calor, que é proporcional à movimentação e concentração desses íons. A polarização eletrônica (Figura 6c) ocorre com formação do dipolo induzido com deslocamento do centro de carga do

elétron em relação ao núcleo e pode ocorrer, ainda, polarização de interface por acúmulo de cargas nos “limites” das espécies químicas (Figura 6d).

Figura 6 - Forma de geração de micro-ondas por aquecimento dielétrico.



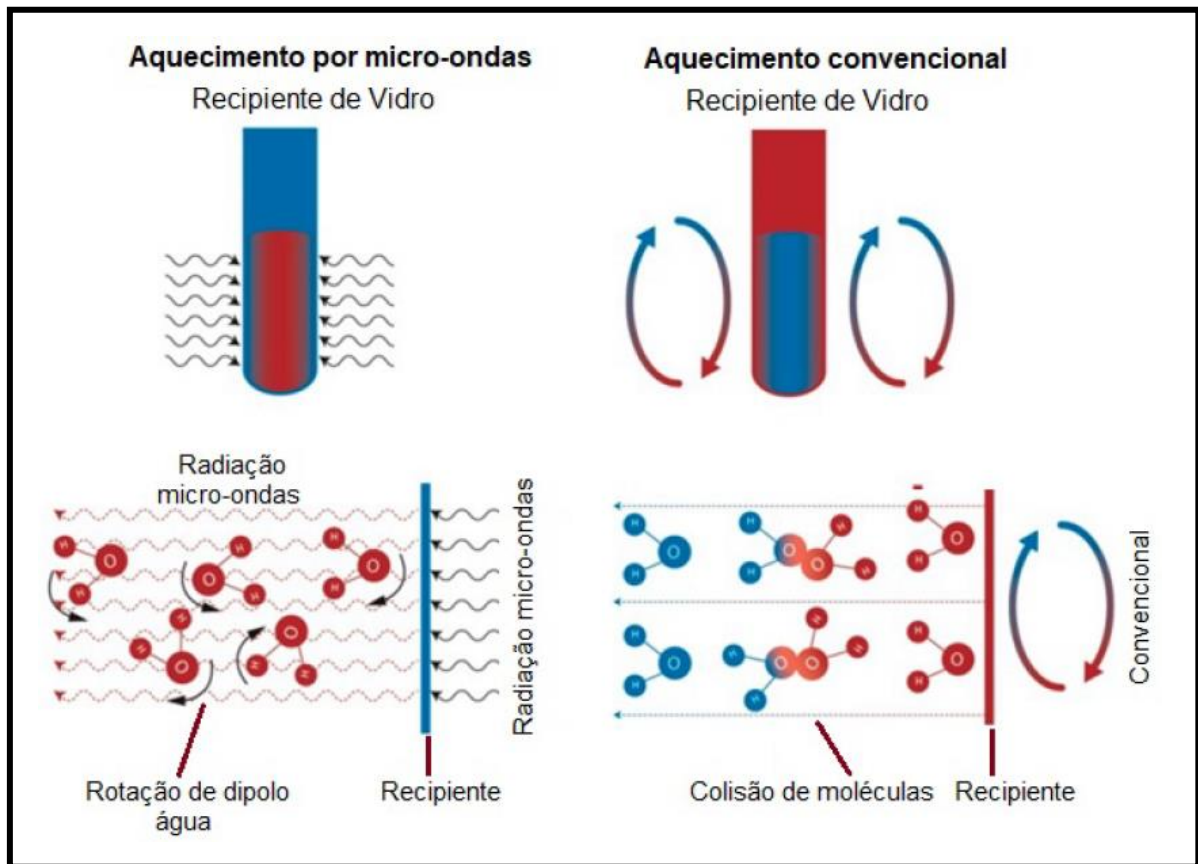
Fonte: Adaptado de WOJNAROWICZ *et al.* (2020, p. 10)

Os sistemas de aquecimento tradicionais geram calor por resistência direta ou indireta e nesses casos necessita de altas correntes (resistência direta) que flui através do material para gerar calor ou por um elemento de aquecimento (jaqueta, por exemplo) no qual o calor aquece o material por contato direto ou indireto (resistência indireta).

Os sistemas tradicionais de aquecimento apresentam diversas desvantagens como a necessidade de altas correntes, possibilidade de contaminação pelo contato direto com o elemento aquecedor, que é aquecido antes do material, o que dificulta o controle preciso da temperatura do meio reacional. Outras desvantagens são o tempo de reação maior, imprecisão em relação ao processo de resfriamento, "efeito parede" (onde ocorre uma temperatura máxima nas superfícies do sistema). Todas essas desvantagens resultam em heterogeneidade do material obtido.

A utilização do sistema por micro-ondas possibilita tempos mais curtos de síntese, controle melhor de parâmetros (como potência, temperatura, tempo e pressão), aquecimento rápido com geração calor de forma homogênea e sem interferência da fonte de calor externa ou mesmo do recipiente (WOJNAROWICZ *et al.*, 2020). O controle melhor dos parâmetros permite, inclusive, aquecimento seletivo uma vez que a reação é diferente para cada tipo de solvente (GABRIEL *et al.*, 1998) e o interior da maior parte dos reatores é fabricado em politetrafluoroetileno (PTFE), comercialmente chamado de Teflon[®], que possui baixa condutividade térmica (0,25W/(m.K)) atuando como isolante térmico, mantendo a câmara de reação em temperatura baixa, o que reduz a influência no processo de síntese (WOJNAROWICZ *et al.*, 2020).

Figura 7 - Ilustração dos processos de aquecimento por micro-ondas e métodos convencionais.



Fonte: Adaptado de WOJNAROWICZ *et al.* (2020, p. 12)

No processo de síntese do MIP com aquecimento convencional, o meio reacional é aquecido de forma indireta, existindo, assim, um gradiente de temperatura. Já no sistema por micro-ondas o aquecimento da solução é direto e homogêneo, havendo assim uma nucleação homogênea e um crescimento uniforme das partículas. Portanto, a síntese por micro-ondas proporciona um rápido tratamento térmico que envolve mecanismo de polarização iônica e dipolar, e o efeito não-térmico resultante da variação do campo eletromagnético.

A síntese dos Polímeros de Impressão Molecular (MIP's) ocorre em etapas e a polimerização do monômero é uma etapa determinante para a obtenção de partículas poliméricas com grande área superficial (TARLEY *et al.*, 2005) e,

consequentemente, mais sítios para ligação da molécula alvo e maior sensibilidade, seletividade e eficiência para Extração em Fase Solida (SPE).

A preparação de MIP assistida por micro-ondas é uma metodologia rápida e simples para obter polímeros com morfologia controlada e boas propriedades de reconhecimento. Sistemas baseados em MIP foram recentemente explorados usando esta tecnologia promissora, que fornece um ambiente limpo, menos demorado e maior controle do processo, uma vez que equipamentos mais modernos de micro-ondas possibilitam o controle da potência, do tempo, da temperatura e da pressão. Assim, a energia de micro-ondas pode influenciar, favoravelmente, na cinética, na seletividade e no rendimento de uma reação química.

Sistemas de extração em fase sólida com polímeros de impressão molecular (MISPE e MISPME) tem muito a ganhar com a aplicação de ferramentas mais eficientes e atuais no processo de síntese o que pode impulsionar o uso desses materiais poliméricos para a análise forense por meio de métodos mais seletivos e sensíveis de análise o que é essencial na área de determinação de baixas concentrações.

Após pesquisas na literatura não foram encontrados trabalhos publicados relacionados à síntese de MIPs por energia micro-ondas para a molécula de cocaína e, diante do exposto, o presente estudo torna-se essencial e permite que essas novas tecnologias sejam aplicadas com esse intuito.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

O objetivo do trabalho é a síntese de Polímeros de Impressão Molecular (MIPs) com emprego de energia micro-ondas e posterior utilização em técnicas de extração em fase sólida (SPE) para identificação e quantificação de drogas ilícitas (cocaína) em amostras ambientais.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do presente trabalho são:

- a) Avaliar a ação da energia micro-ondas (MW) na síntese de polímeros de impressão molecular.
- b) Avaliar diferentes morfologias dos polímeros obtidos por meio dos diferentes processos de síntese com intuito de melhorar a seletividade, sensibilidade, exatidão e precisão do método de extração e identificação dos analitos.
- c) Investigar a ação dos MIPs em sistemas de extração em fase sólida dispersiva.
- d) Desenvolver novos métodos para identificar a presença de cocaína em baixas concentrações em amostras ambientais.
- e) Avaliar o desempenho dos MIPs para análise de amostras visando detecção de cocaína em matrizes complexas.
- f) Fornecer dados objetivos e concretos sobre o consumo de cocaína em uma determinada população e auxiliar o mapeamento de tendências de consumo.

4 EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes e soluções analíticas

Para a síntese dos polímeros (NIPs e MIPs) foram utilizados o Ácido Metacrílico (MAA) 99%, 0,94g mL⁻¹ (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA); como ligante cruzado o Etilenoglicol-dimetil-acrilato (EGDMA) 98%, 1,051 g mL⁻¹ (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA); como iniciador a 2,2'-Azobis(2-metil-propionitrila) (AIBN) 97% (Matrix Scientific, Columbia, SC, EUA) e como solvente porogênico a Acetonitrila (ACN) grau HPLC, 99,9% (Merck Co. Darmstadt, Alemanha).

Moléculas moldes para a síntese dos MIPs foram utilizadas a Sertralina 99% (MIP-S) e a Cocaína 66% (MIP-C) sendo esta última obtida após autorização judicial. Foi recolhida uma amostra de aproximadamente 5g de cocaína (COC) apreendida e a amostra foi analisada por CG-MS e HPLC e pode-se constatar a ausência de adulterantes comumente encontrados em amostras de cocaína e um grau de pureza de aproximadamente 66%. Foi realizado o teste de solubilização da amostra em água ultra-pura (Milli-Q) e após solubilização completa pode-se inferir que a amostra se apresentava sob a forma de cloridrato de cocaína.

Como padrão de cocaína o presente trabalho utilizou uma solução padrão de cocaína fornecida pela Superintendência de Polícia Técnico-Científica da Polícia Civil de Minas Gerais e tratava-se de um padrão MRC (Material de Referência Certificado), distribuído pela Polícia Federal para as Polícias Civas dos entes da federação para padronização e maior exatidão dos resultados. O MRC é um padrão de análise produzido seguindo a norma ABNT NBR ISO 17034: requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência.

O padrão de cocaína MRC, com concentração de 1mg mL⁻¹ foi utilizado para a calibração e controle de qualidade analítico dos equipamentos de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG-MS) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).

Soluções intermediárias de COC nas concentrações de 1 a 500 mg L⁻¹ foram preparadas a partir de solução padrão de cocaína MRC e aplicadas para calibração do equipamento CGMS por meio de curva analítica em triplicata com seis pontos (1,

5, 10, 50, 100 e 500 mg L⁻¹). Todas as soluções intermediárias foram preparadas a partir de reagentes químicos de grau analítico e diluídas em Metanol grau HPLC, 99,9% (Merck Co. Darmstadt, Alemanha). Os padrões foram armazenados em frascos (*vial*) de vidro (Agilent Technologies, Inc, Santa Clara, CA, EUA) sendo mantidos refrigerados a 4°C.

Solventes grau HPLC-UV e MS, como acetonitrila (ACN), Etanol e Metanol, todos reagentes grau HPLC, 99,9% (Merck Co. Darmstadt, Alemanha) e foram empregados para a identificação e quantificação da cocaína. Sais ou soluções das diferentes drogas/agentes psicotrópicos e seus respectivos metabólitos foram preparadas dissolvendo-se os respectivos sais ou diluindo as soluções padrões e posteriormente armazenadas em freezer e protegidos da luz para garantir a não degradação das espécies. Todas as soluções utilizadas foram preparadas a partir de reagentes de pureza analítica e água ultrapura obtida no sistema Milli-Q.

As amostras foram armazenadas em frascos âmbar de borossilicato e/ou de polipropileno de alta densidade, previamente descontaminados. Após a coleta as amostras foram transportadas em refrigeração ao Laboratório da Universidade Federal de Alfenas, onde foram mantidas refrigeradas e na ausência de luz até o momento dos estudos. Os ensaios de Dessorção e Adsorção de Cocaína dos MIP-C foram realizados na sequência.

Para os ensaios de adsorção e dessorção da cocaína dos polímeros MIPs (MIP-1C e MIP-10C) foram utilizadas soluções extratoras de Acetonitrila grau HPLC e Ácido Acético grau HPLC, 99,9% (Merck Co. Darmstadt, Alemanha) preparadas na proporção 9:1, respectivamente e uma segunda extração foi realizada utilizando-se solução extratora de Metanol grau HPLC.

Os ensaios em amostras reais foram realizados utilizando-se amostras de águas superficiais recolhidas do desastre ambiental ocorrido na cidade de Mariana (MG) e disponível no laboratório para os ensaios de adsorção e dessorção e amostra de esgoto urbano tratado recolhido na Estação de Tratamento de Esgoto da cidade de Poços de Caldas (MG) na data de 31 de agosto de 2021 para a quantificação da cocaína em amostra de esgoto e mensuração do consumo populacional. A utilização da água superficial do desastre ambiental ocorrido na cidade de Mariana (MG) foi escolhida pela presença de diversos contaminantes na amostra, estar disponível no laboratório e apresentar diversos sedimentos.

4.2 Materiais e equipamentos

Os experimentos de síntese dos polímeros de impressão molecular foram realizados em frascos fechados de PFA de 75mL (modelo MARSXpress) e utilizando o equipamento de micro-ondas (MW), marca CEM ®, modelo MARS 6, 220 V, 60 Hz (Matthews, EUA) com uma frequência de micro-ondas de 2.450 MHz e potência ajustável de 10 a 1.800 W.

Após sintetizados os polímeros eram secos em estufa a 60°C até estabilização da massa e então eram pesados em balança analítica marca Shimadzu ®, modelo AY220, (Shimadzu Co., Quito, Japão), com capacidade de leitura (d) de 0,1mg e capacidade máxima de pesagem de 220g, para cálculo de rendimento do processo e após secagem os polímeros eram armazenados em dessecador.

Após pesagem para cálculo de rendimento foram utilizados os seguintes equipamentos para caracterização:

- Análise por espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) utilizando-se o espectrômetro FTIR Cary 630 (Agilent ®, Santa Clara, CA, EUA) acoplado ao sistema ZnSe ATR com faixa de leitura de 600 a 4000 cm^{-1} .

- Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Carbono ^{13}C realizada no equipamento de Ressonância Magnética Nuclear de 400MHz, marca Bruker, modelo BioSpin GmbH, TopSpin versão 3.2.

- Análise termogravimétrica (TGA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) utilizando-se o equipamento marca Netzsch ®, Modelo STA 449F3 Jupiter (Netzsch, Selb, Alemanha) com faixa de temperatura de 30 a 1000°C, taxa de aquecimento de 10°C min^{-1} , amostras depositadas em cadinho de platina, com fluxo de Nitrogênio como gás de purga a uma vazão de 100mL min^{-1} .

- Análise de área superficial (BET) e diâmetro dos poros pelo equipamento marca Micromeritics ®, modelo Gemini VII, versão 3.03 (Micromeritics Instrument Co., Norcross, GA, EUA) utilizando-se de Nitrogênio como gás adsorvivo.

Após a caracterização dos MIPs os estudos de dessorção, adsorção e análise em amostras reais foram realizadas em agitadores magnéticos e a cocaína foi

quantificada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS).

O equipamento de CG-MS utilizado na quantificação de cocaína foi o cromatógrafo a gás marca Agilent®, Modelo 7890B (Agilent Technologies, Inc, Santa Clara, CA, EUA), equipado com amostrador automático Combi-Pal CG Sampler 80, utilizando gás Hélio 5.0 como gás de arraste e acoplado ao Espectrômetro de Massas, marca Agilent®, modelo MSD 5977A (Agilent Technologies, Inc, Santa Clara, CA, EUA), com ionização por impacto de elétrons (IE) e filtro de massa quadrupolo hiperbólico. O processamento dos dados cromatográficos foi administrado pelo Software do Sistema de Dados de Análise Quantitativa Agilent Mass Hunter software (versão B.08.00; Agilent, Santa Clara, CA, EUA).

As condições cromatográficas foram coluna Agilent J&W DB-5MS UI, 30m x 0,250mm x 0,25µm, temperatura do injetor: 280°C, temperatura da linha de transferência: 280°C, temperatura da fonte de íons: 230°C, temperatura do quadrupolo: 150°C, temperatura da coluna: 200°C por 0,5 min, aquecimento linear a 40°C min⁻¹ até 230°C, aquecimento linear a 30°C min⁻¹ até 290°C, mantendo esta temperatura por 2,5 min., tempo total de corrida: 5,75 minutos, fluxo de gás de arraste (hélio): 1,0 mL min⁻¹., razão de divisão da amostra (split): 1:20., purga de septo: 4,0 mL min⁻¹., gas saver: ativado em 0,5 min. (20 mL min⁻¹), aquisição: full scan com m/z de 42 a 600 uma., início de aquisição (solvent delay): 1,6 min., gain fator: 1, volume de injeção: 1 µL.

4.3 Síntese dos polímeros utilizando energia micro-ondas

Primeiramente foram feitas tentativas de síntese do polímero de impressão molecular sem a molécula molde (“template”) o que é chamado de NIP e realizar testes preliminares para verificação da capacidade de produção do polímero utilizando a energia micro-ondas.

A síntese dos polímeros sem a molécula molde (NIP) e com a molécula molde (MIP) foram feitas com a mesma proporção de reagentes, sendo a única diferença a não adição da molécula alvo (“template”) nessa primeira etapa (síntese dos NIPs). Após pesquisa na literatura foi definido quais reagentes eram mais utilizados para essa finalidade e em qual proporção. Foi definido a escolha dos reagentes Ácido

Metacrílico (MAA) como monômero funcional, Etilenoglicol-dimetil-acrilato (EGDMA) como ligante cruzado, 2,2'-Azobis(2-metil-propionitrila) (AIBN) como iniciador e Acetonitrila (ACN) como solvente porogênico.

A proporção dos reagentes também foi definida com base na literatura e a melhor proporção foi definida como sendo 1:4:20 para o “templete”, MAA e EGDMA, respectivamente, 0,1 mol de “templete”, 0,4 mol de MAA, 2,0 mols de EGDMA, 50mg de AIBN e 6,0mL de ACN.

A síntese do NIP foi realizada utilizando radiação por micro-ondas (MW) e nesse estudo os reagentes foram misturados em frascos de PFA, MAR SXpress de 75mL, adicionando 6,0mL de Acetonitrila (ACN) como solvente porogênico em seguida foi adicionado 0,4 mol (37 μ L) de Ácido Metacrílico (MAA) como monômero e 2,0 mols (389 μ L) do ligante cruzado Etilenoglicol-dimetil-acrilato (EGDMA), homogeneizado e em seguida adicionado 50mg do iniciador 2,2'-Azobis(2-metil-propionitrila) (AIBN). Após agitação, os frascos foram purgados com nitrogênio por um minuto, selados e fechados (sistema fechado) e encaixados no rotor do equipamento de micro-ondas.

Para a obtenção dos NIPs as soluções foram submetidas a tratamento térmico no equipamento de micro-ondas e conforme descrito nas Tabelas 2 a 4. No estudo foram avaliados os seguintes parâmetros: a potência aplicada de micro-ondas, a temperatura do meio reacional, o tempo de reação (tempo de rampa e permanência) e a velocidade de aquecimento no tempo de rampa. Todas as variáveis foram obtidas empregando o software do equipamento CEM ® MARS6 e visando a obtenção de uma melhor morfologia, maior área superficial, menor tamanho de partículas, número e tamanho de poros, entre outros fatores.

Primeiramente foram realizadas as tentativas de síntese dos NIP's, depois foram sintetizados os MIPs com Sertralina como molécula molde por ser uma molécula (fármaco) orgânico, mais disponível no laboratório e por último sintetizados os MIPs com Cocaína como molécula molde em razão desta última ser uma molécula de difícil obtenção. Os programas de síntese foram definidos com base no controle de temperatura do meio reacional, durante o processo de síntese e com base na temperatura de evaporação do solvente porogênico.

O controle de temperatura foi realizado por meio de ajustes na potência do equipamento e os primeiros parâmetros de síntese dos NIPs foram definidos para um

limite de temperatura de 60 °C, tempo de rampa de 1 minuto a 1200W e potência de permanência em 80W, com variação no tempo total de síntese (Tabela 2):

Tabela 2 - Primeiros parâmetros de síntese dos NIPs.

Parâmetros	NIP-1	NIP-2	NIP-3	NIP-4
Limite de Temperatura	60°C	60 °C	60 °C	60 °C
Rampa (1 min.)	1200W	1200W	1200W	1200W
Permanência	80W	80W	80W	80W
Tempo total de síntese	60 min.	45 min.	30 min.	15 min.

Fonte: Do autor.

Como resultado dessa primeira síntese houve a produção dos polímeros NIP-1, NIP-2 e NIP-3 e não houve síntese de polímero nas condições do NIP-4. Após análise termogravimétrica dos primeiros polímeros sintetizados (NIP-1, NIP-2 e NIP-3) foi feito um ajuste na metodologia para o meio reacional não ultrapassar o limite de 110 °C.

Para a síntese dos MIPs foram mantidas as mesmas quantidades de reagentes e na mesma ordem, porém, após adição de 6,0mL de Acetonitrila (ACN) foi adicionado/dissolvido 20mg de Setralina 98% (MIP-1S e MIP-2S) para então ser adicionado os demais reagentes. Na síntese do MIP-3S foi adicionado o dobro de reagentes e mantidas as mesmas condições de síntese do MIP-1S para avaliação do sistema com maior quantidade de reagentes. Para a síntese do MIP-1C foi dissolvido 20mg de Cocaína em 6,0mL de Acetonitrila (ACN) e então adicionado os demais reagentes na mesma quantidade (37µL de Ácido Metacrílico como monômero, 389µL do ligante cruzado Etilenoglicol-dimetil-acrilato (EGDMA), homogeneizado e em seguida adicionado 50mg do iniciador 2,2'-Azobis(2-metil-propionitrila) (AIBN). Após agitação, os frascos foram purgados com nitrogênio por um minuto, selados e fechados (sistema fechado) e encaixados no rotor do equipamento de micro-ondas. Os novos parâmetros de síntese foram definidos conforme Tabela 3:

Tabela 3 - Segundos parâmetros de síntese dos NIPs eMIPs.

Parâmetros	NIP-5	NIP-6	MIP-1S	MIP-2S	MIP-3S	MIP-1C
Limite de Temperatura	110 °C	110 °C	110 °C	110 °C	110 °C	110 °C
Rampa (1 min.)	1200W	1200W	1200W	1200W	1200W	1200W
Permanência	100W	100W	100W	100W	100W	100W
Tempo total de síntese	30 min.	15 min.	15 min.	30 min.	15 min.	30 min.

Fonte: Do autor.

Após a síntese dos MIPs conforme Tabela 3 foi novamente ajustado o método de síntese em razão do ponto de ebulição do solvente porogênico utilizado (Acetonitrila) que é de 82 °C. Para tal foi definido um limite de temperatura do meio reacional de 80 °C, que foi obtido alterando-se os parâmetros de síntese conforme tabela abaixo:

Tabela 4 - Terceiros parâmetros de síntese do MIP-10C.

Parâmetros	MIP-10C
Limite de Temperatura	80 °C
Rampa (2 min.)	400W
Permanência	80W
Tempo total de síntese	30 min.

Fonte: Do autor.

Após a síntese os polímeros foram colocados em vidro de relógio e secos em estufa a 60°C por 48 horas.

Após a secagem os NIPs foram analisados e caracterizados e os MIPs (MIP-1S, MIP-2S, MIP-3S, MIP-1C e MIP-10C) passaram pelo processo de remoção das moléculas-molde para então serem analisados e caracterizados.

4.4 Remoção das moléculas-molde

Os processos de remoção da molécula-molde bem como os ensaios de adsorção/dessorção das moléculas-alvo, dos MIPs sintetizados, foram realizados por meio da técnica de Extração em Fase Sólida Dispersiva (D-SPE), onde a fase sólida (MIP) é dispersa diretamente no meio líquido (amostra ou solução extratora) e em seguida esta fase sólida é removida do meio para realização de eventual caracterização e/ou aplicação e posterior quantificação. Os testes de adsorção/dessorção foram realizados apenas para a molécula de Cocaína (MIP-1C e MIP-10C) e comparados os resultados.

O procedimento de remoção da molécula-alvo foi realizado de maneira idêntica para todos os polímeros sintetizados (MIP-1S, MIP-2S, MIP-3S, MIP-1C e MIP-10C). Em cinco béquer de 50mL foram adicionados 500mg de cada um dos polímeros, separadamente, e adicionado 10mL de água Milli-Q em cada um, colocados em agitador magnético em velocidade média e em temperatura ambiente por 10 min.

Após a filtração e secagem dos polímeros foi feita uma segunda lavagem nas mesmas condições e a água da primeira e segunda lavagens dos MIP-1C e MIP-10C foram recolhidas e armazenadas para posterior quantificação da Cocaína.

Após as duas lavagens com água Milli-Q para remoção do excesso de reagentes dos MIPs foram realizadas duas extrações sequenciais das moléculas-molde (Sertralina e Cocaína).

Os ensaios de dessorção para remoção da molécula-molde dos polímeros sintetizados foram realizados com aproximadamente 400mg de cada um dos polímeros sintetizados (MIP-1S, MIP-2S, MIP-3S, MIP-1C e MIP-10C) e adicionado 10mL de solução extratora de Acetonitrila e Ácido Acético (9:1), sob agitação magnética a temperatura ambiente e coletadas alíquotas das soluções extratoras dos MIP-1C e MIP-10C nos tempos 0, 2, 5, 10, 20 e 30 min.

Após 30 min. sob agitação foram realizadas filtrações e os MIPs foram secos. Em seguida uma segunda extração foi realizada em procedimento idêntico ao anterior.

Por último os MIP-1C e MIP-10C, duplamente extraídos com solução de Acetonitrila/Ácido Acético (9:1) passaram por duas novas extrações, agora com Metanol, uma vez que se trata do solvente padrão utilizado na técnica de

Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CGMS). As duas extrações foram realizadas em sequência ambas adicionando 10mL de Metanol em agitação magnética e temperatura ambiente por 10 min. As alíquotas (3mL) da primeira e da segunda solução extratora foram coletadas após 10min. de extração para posterior quantificação da cocaína eventualmente extraída.

Após a dupla extração com Metanol os MIP-1C e MIP-10C foram utilizados para ensaios de adsorção em amostra ambiental e em seguida foram realizados os estudos para quantificação de cocaína em amostras de esgoto urbano de Poços de Caldas (MG).

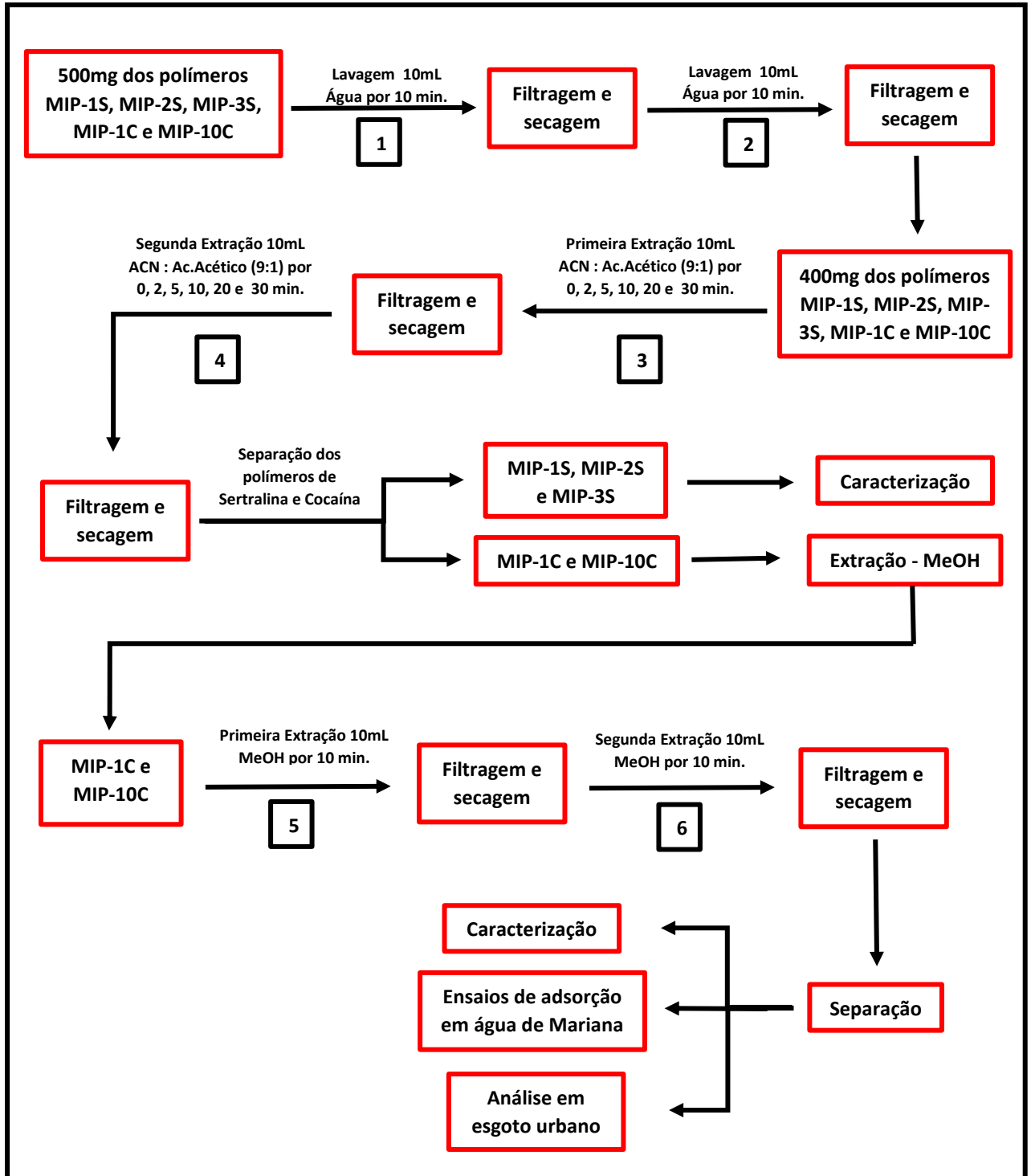
O processo de remoção das moléculas-molde acima descrito é representado graficamente pela Figura 8.

4.5 Ensaios de adsorção e análise em amostra real

Após a lavagem e remoção da molécula molde dos MIP-1C e MIP-10C foram separadas alíquotas dos mesmos para os ensaios de adsorção. Os ensaios foram realizados em quatro béqueres onde 150mg dos polímeros foram adicionadas e o procedimento foi realizado conforme esquema descrito na Figura 9.

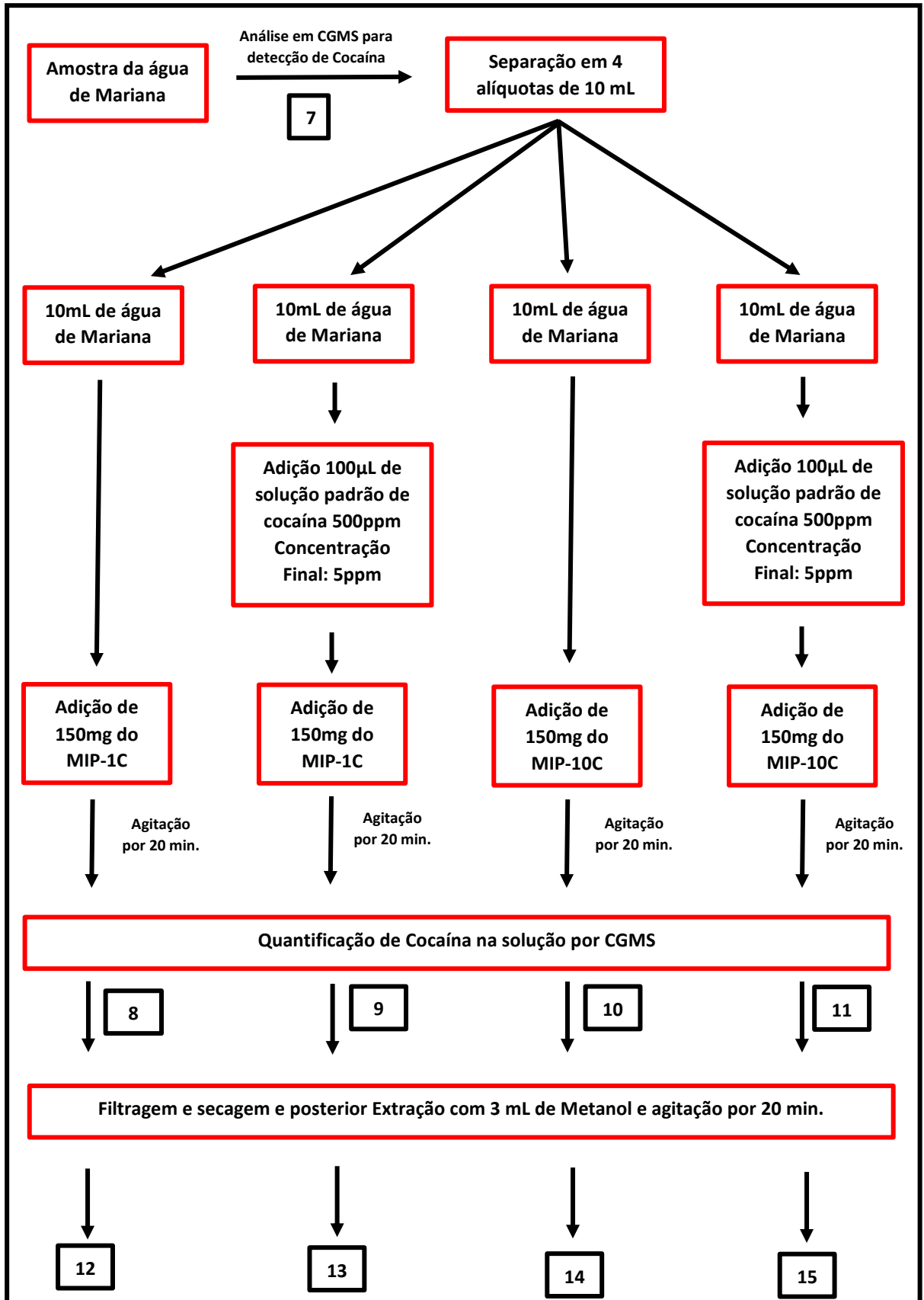
Um segundo ensaio de adsorção foi realizado para avaliar a capacidade máxima de adsorção dos MIP-1C e MIP-10C bem como sua seletividade em amostra real. Para tal foram adicionadas às amostras de água do desastre ambiental ocorrido na cidade de Mariana (MG) altas quantidades de cocaína para mensurar a capacidade máxima de remoção de cocaína do meio por parte dos MIPs. Os procedimentos estão descritos no esquema da Figura 10.

Figura 8 - Esquema gráfico evidenciando o processo de remoção da molécula-molde.



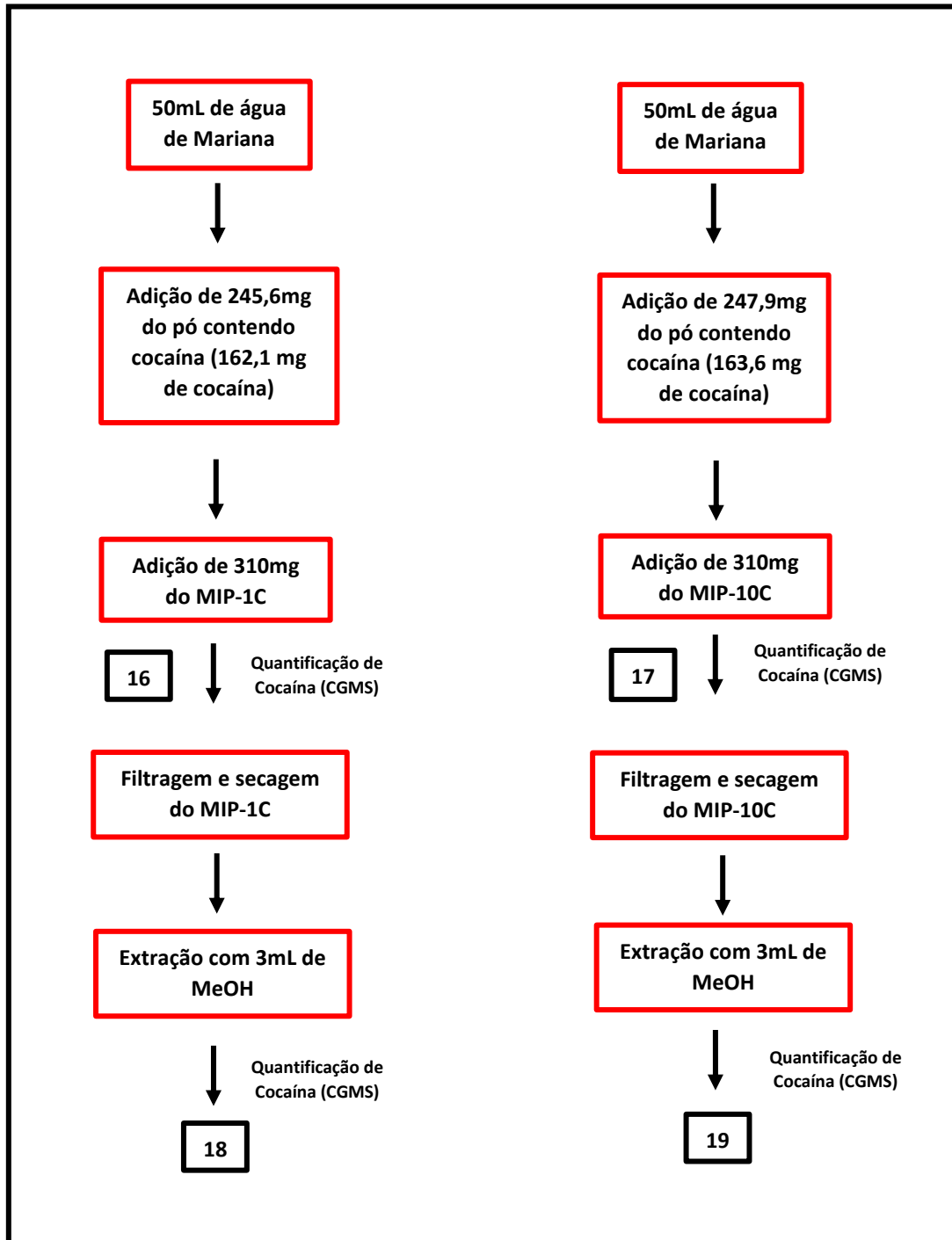
Fonte: Do autor.

Figura 9 - Esquema gráfico evidenciando o processo dos ensaios de adsorção.



Fonte: Do autor.

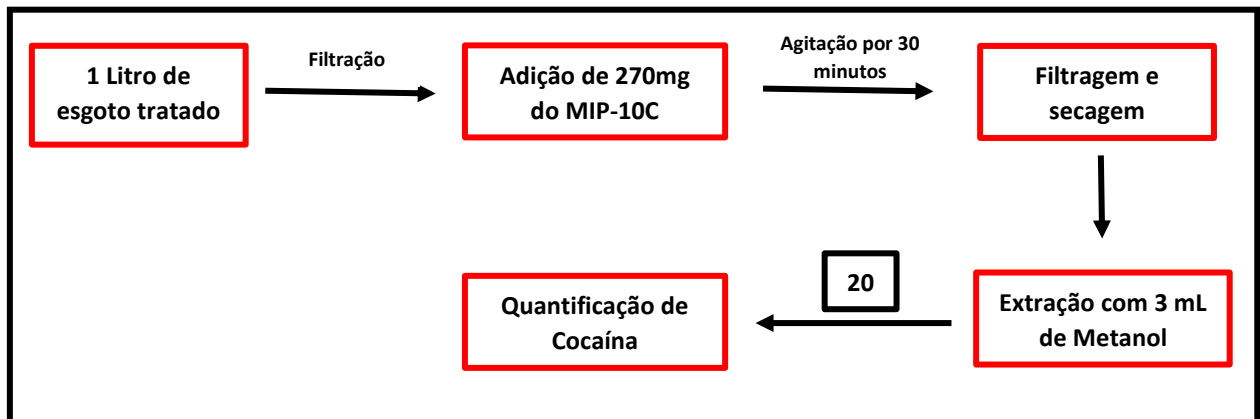
Figura 10 - Esquema gráfico evidenciando o processo dos ensaios de adsorção para determinação da capacidade máxima de remoção de cocaína do meio.



Fonte: Do autor.

Por último foi realizada a análise em amostra real de esgoto tratado do município de Poços de Caldas (MG) conforme descrito no esquema da Figura 11. A análise foi realizada em uma amostra de esgoto tratado (1 L) colhida em 31 de agosto de 2021 na estação de tratamento de esgoto (ETE) do município. Nessa amostra foi adicionado 110mg do MIP-10C que passara por dupla lavagem, dupla extração com Acetonitrila/Ácido Acético (9:1), dupla extração com Metanol e após análise por CG-MS para garantir a ausência de cocaína oriunda do processo de síntese.

Figura 11 - Esquema gráfico evidenciando o processo quantificação da cocaína em esgoto urbano tratado.



Fonte: Do autor.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a síntese, assistida por energia micro-ondas, dos polímeros e remoção das moléculas-molde os MIPs foram caracterizados e analisados em relação ao rendimento, estrutura molecular por técnicas de FTIR e RMN de ^{13}C , estabilidade térmica (STA), área superficial e diâmetro dos poros (BET) e ensaios de adsorção/dessorção em amostras ambientais.

5.1 Síntese e rendimento em massa

Após a síntese com tempos de permanência de 30, 45 e 60 min. e nas condições descritas na Tabela 2 os três NIPs foram obtidos e com massas descritas na Tabela 5. Os NIPs sintetizados foram posteriormente caracterizados por FTIR e TGA para avaliação do processo de síntese e após análise dos resultados de FTIR pode-se concluir que houve a formação dos polímeros, conforme descritos e analisados adiante.

Tabela 5 - Quantidade em massa (mg) dos polímeros sintetizados.

NIP-1	NIP-2	NIP-3	NIP-4	NIP-5	NIP-6	MIP-1S	MIP-2S	MIP-3S	MIP-1C	MIP-10C
242	251	238	0	244	240	339	366	364	462	408

Fonte: Do autor.

Os resultados de Análise Termogravimétrica (TGA) demonstraram uma estabilidade dos polímeros até uma temperatura de 120 °C, conforme descrito e analisado posteriormente, o que permitiu ajustes nos parâmetros de síntese e estabelecer um limite de temperatura para o processo de síntese de 110°C e assim um novo programa de síntese foi ajustado. Foi mantida a Etapa 1 (rampa de aquecimento em 1200W por 1 min. e em seguida na Etapa 2 (permanência) a potência foi alterada de 80W para 100W e avaliadas as sínteses em 15 e 30 min. tanto para os NIPs quanto para os polímeros com Sertralina e Cocaína (Tabela 3).

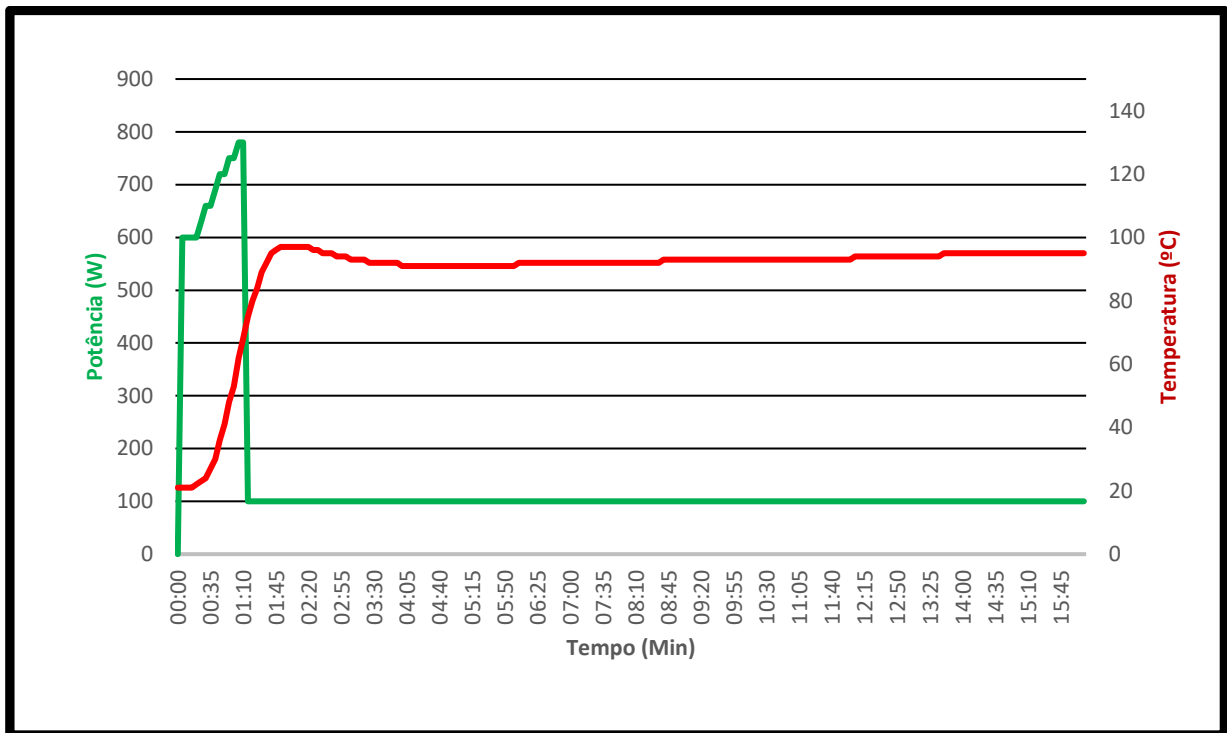
Nessa nova condição houve a síntese de todos os polímeros nos tempos de 15 e 30 min. de reação (exemplo na Figura 12). Os seis polímeros formados (NIP-5, NIP-6, MIP-1S, MIP-2S, MIP-3S e MIP-1C) também foram posteriormente caracterizados e os resultados discutidos adiante. A polimerização obtida em 15 min. de reação com potência de permanência em 100W, o que não ocorreu com a potência em 80W, permite concluir que a potência teve efeito direto sobre a polimerização, uma vez que o aumento da potência aumenta a vibração das moléculas polares e a temperatura do meio, o que reduziu o tempo de síntese (RANA *et al.*, 2014; WOJNAROWICZ *et al.*, 2020).

Figura 12 - Polímero de impressão molecular MIP-1S recém-sintetizado.



Fonte: Do autor.

Figura 13 - Controle de temperatura e potência em função do tempo para a síntese no equipamento MW do segundo método de síntese (Tabela 3) e em 15 minutos.



Fonte: Do autor.

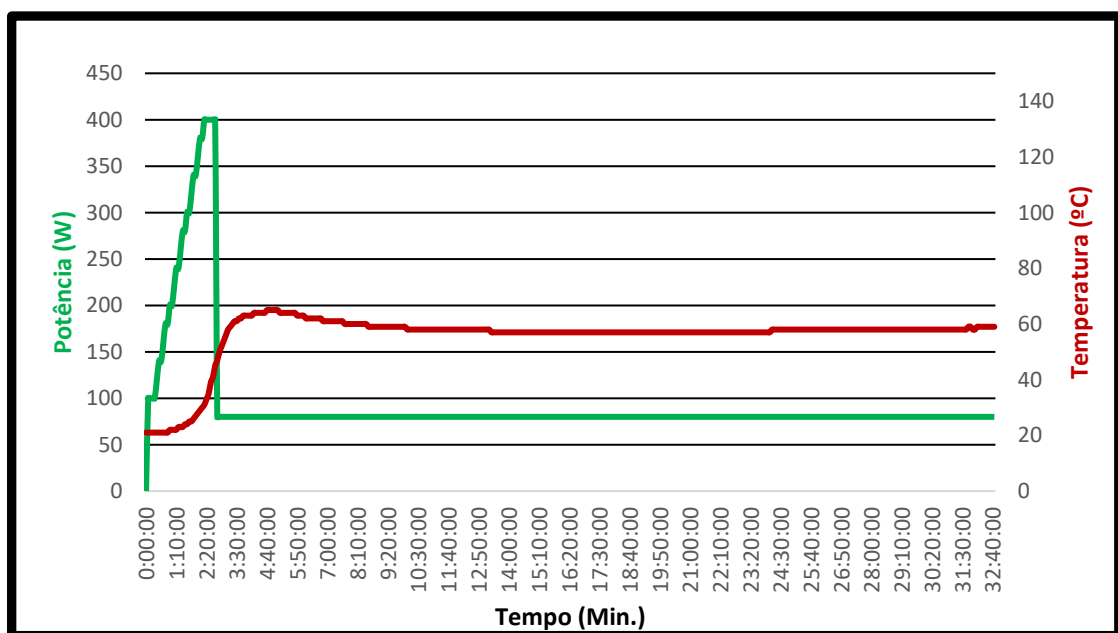
Com o intuito de aumentar a área superficial do MIP, melhorar o tempo de síntese e o rendimento foi proposta uma nova alteração nos parâmetros de síntese. Os novos parâmetros de síntese foram descritos na Tabela 4 (MIP-10C) e tinham como objetivo proporcionar uma melhor movimentação dos íons (WOJNAROWICZ, J. *et al.*, 2020), o possível favorecimento da nucleação no processo de síntese e um crescimento mais lento do MIP. Esse novo processo resultou no polímero demonstrado na Figura 14 e forneceu os melhores resultados para o produto formado e conforme será discutido posteriormente.

Figura 14 - Polímero de impressão molecular MIP-10C recém-sintetizado.



Fonte: Do autor.

Figura 15 - Controle de temperatura e potência em função do tempo para o método de síntese do MIP-10C e que obteve os melhores resultados.



Fonte: Do autor.

Após a síntese e secagem dos polímeros em estufa por 48 horas a 60°C o rendimento, em massa, dos polímeros não demonstrou variação significativa em relação à variação do processo de síntese, porém, houve variação de rendimento entre os NIPs e MIPs para Sertralina e MIPs para Cocaína. Essa variação de rendimento foi maior mesmo desconsiderando as massas da adição das moléculas “molde” (Sertralina ou Cocaína). O aumento de rendimento ao adicionar as moléculas-alvo pode estar relacionado à uma polimerização mais eficiente em torno das moléculas-molde em relação à ausência destas no meio reacional (NIPs). Analisando os polímeros sintetizados nas mesmas condições foi obtido uma quantidade de polímero, em massa, 47% maior para o MIPs com a molécula de Sertralina em relação aos NIPs e de mais de 90% para o MIP-1C em relação aos NIP-5 e NIP-6.

Ao se comparar as sínteses do MIP-1C e MIP-10C, onde a mesma quantidade de reagentes foi utilizada e os parâmetros da síntese foram alterados houve uma redução de aproximadamente 12% em massa do MIP-10C em relação ao MIP-1C, que pode ser explicada pela redução da potência de permanência de 100W para 80W aliada à alteração da potência e do tempo de rampa.

5.2 Caracterização dos MIPs para Cocaína

Os materiais sintetizados nas diferentes condições e que foram descritas nas Tabelas 2, 3 e 4, foram caracterizados por FTIR, RMN e outras técnicas descritas adiante.

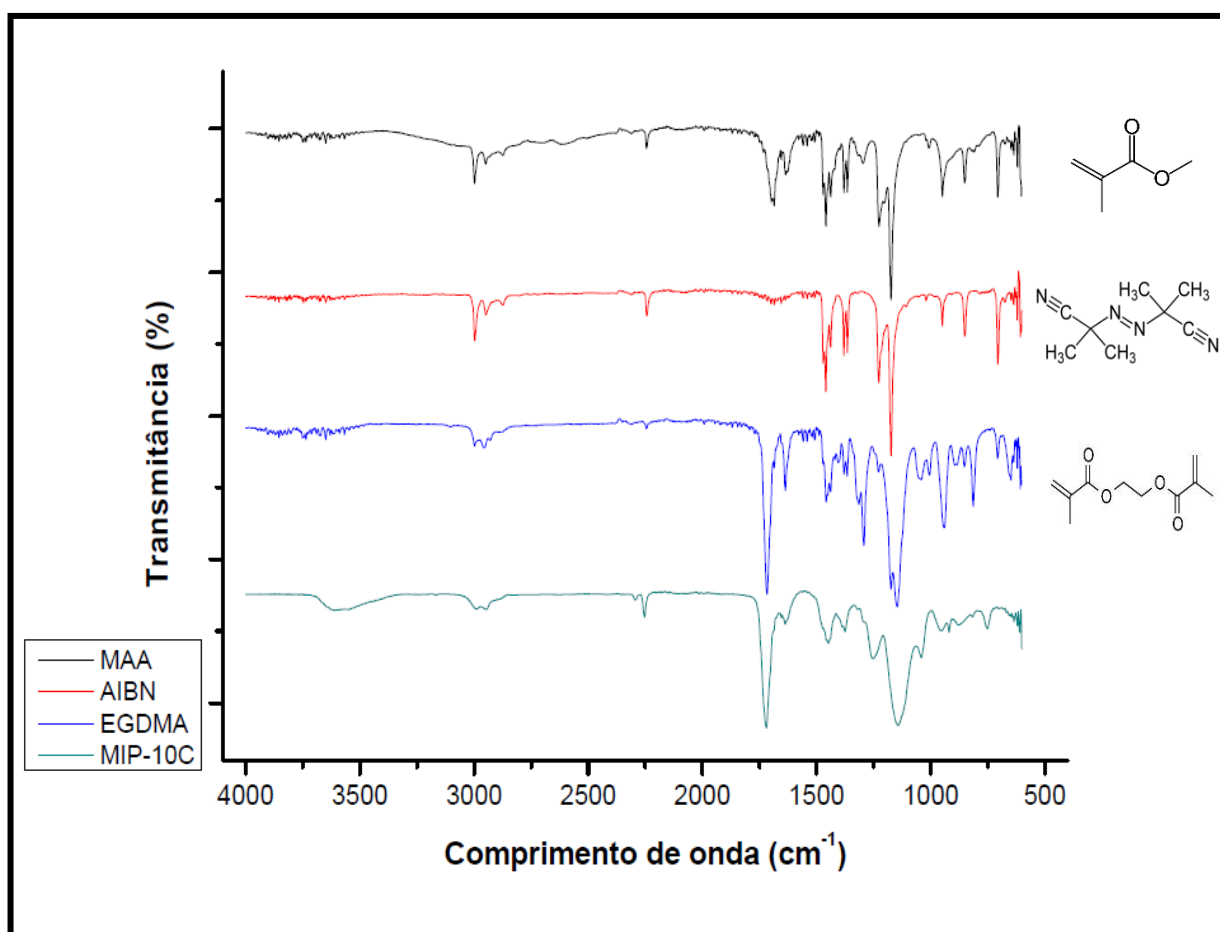
5.2.1 Caracterização química da superfície dos materiais por FTIR

Primeiramente foram analisados os espectros obtidos por FTIR de todos os reagentes utilizados e de todos os polímeros sintetizados. Os espectros dos reagentes que compõem o polímero foram comparados com o espectro do polímero sintetizado MIP-10C. Em seguida foi feita uma análise individual do espectro do MIP-1C e comparado com o espectro do polímero sintetizado sem a molécula-molde de cocaína

(NIP-1). Por último foi realizada a comparação dos espectros dos polímeros MIP-1C e MIP-10C que foram sintetizados por sistemas diferentes.

Os espectros de FTIR dos reagentes Ácido Metacrílico (MAA), Etilenoglicol-dimetil-acrilato (EGDMA), 2,2'-Azobis(2-metil-propionitrila) (AIBN) e do polímero MIP-10C estão demonstrados na Figura 16.

Figura 16 - Espectro de absorção por FTIR dos reagentes e respectivas fórmulas moleculares e FTIR do MIP-10C sintetizado.

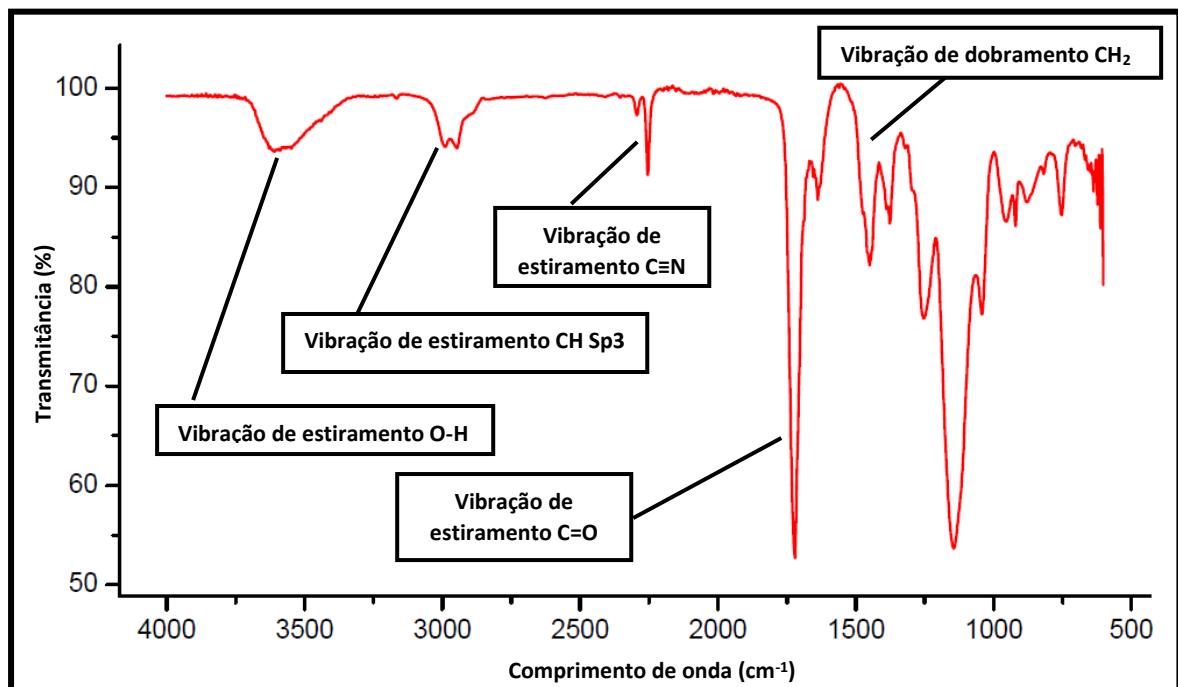


Fonte: Do autor.

A análise dos espectros FTIR indica que houve uma pequena redução na transmitância do composto formado (MIP-10C) na região do comprimento de onda 3000 cm⁻¹ quando comparada aos reagentes Ácido Metacrílico e AIBN e uma redução

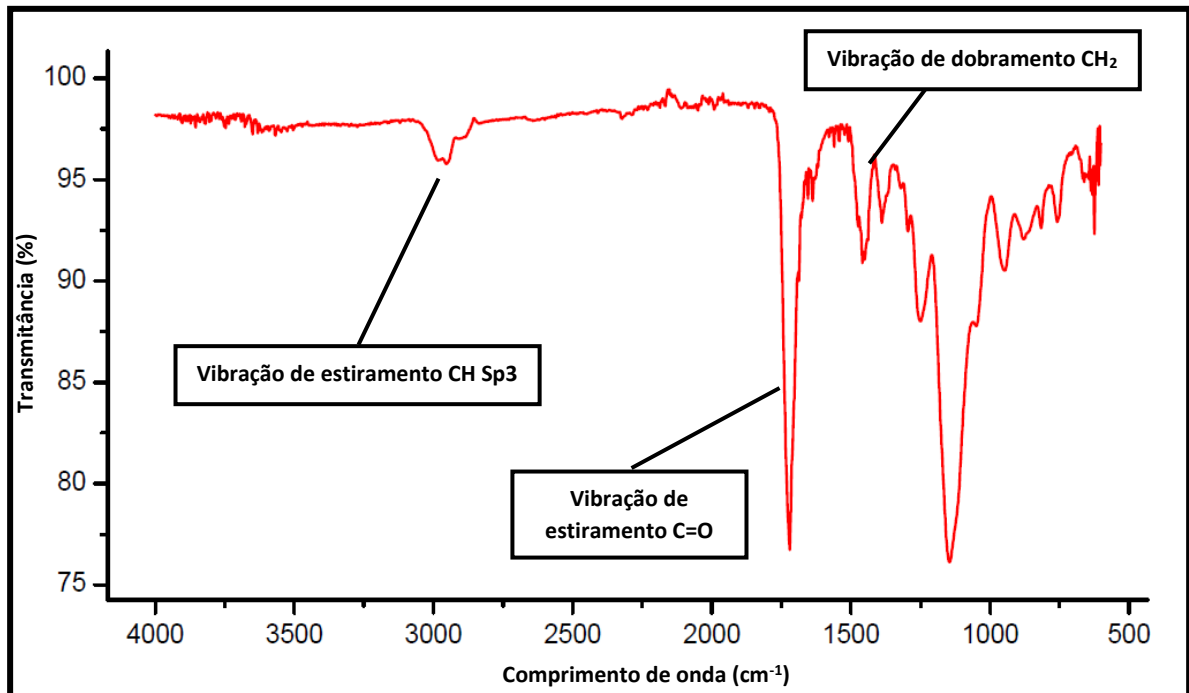
significativa na transmitância do MIP-10C quando comparado ao reagente EGDMA nas regiões de 1700 cm^{-1} 1300 cm^{-1} 1100 cm^{-1} e 900 cm^{-1} o que sugere o consumo do EGDMA e a possível incorporação do mesmo à estrutura polimérica (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2006), algo desejável para uma boa formação de sítios de ligação.

Figura 17 - Espectro de absorção por FTIR do MIP-1C sintetizado.



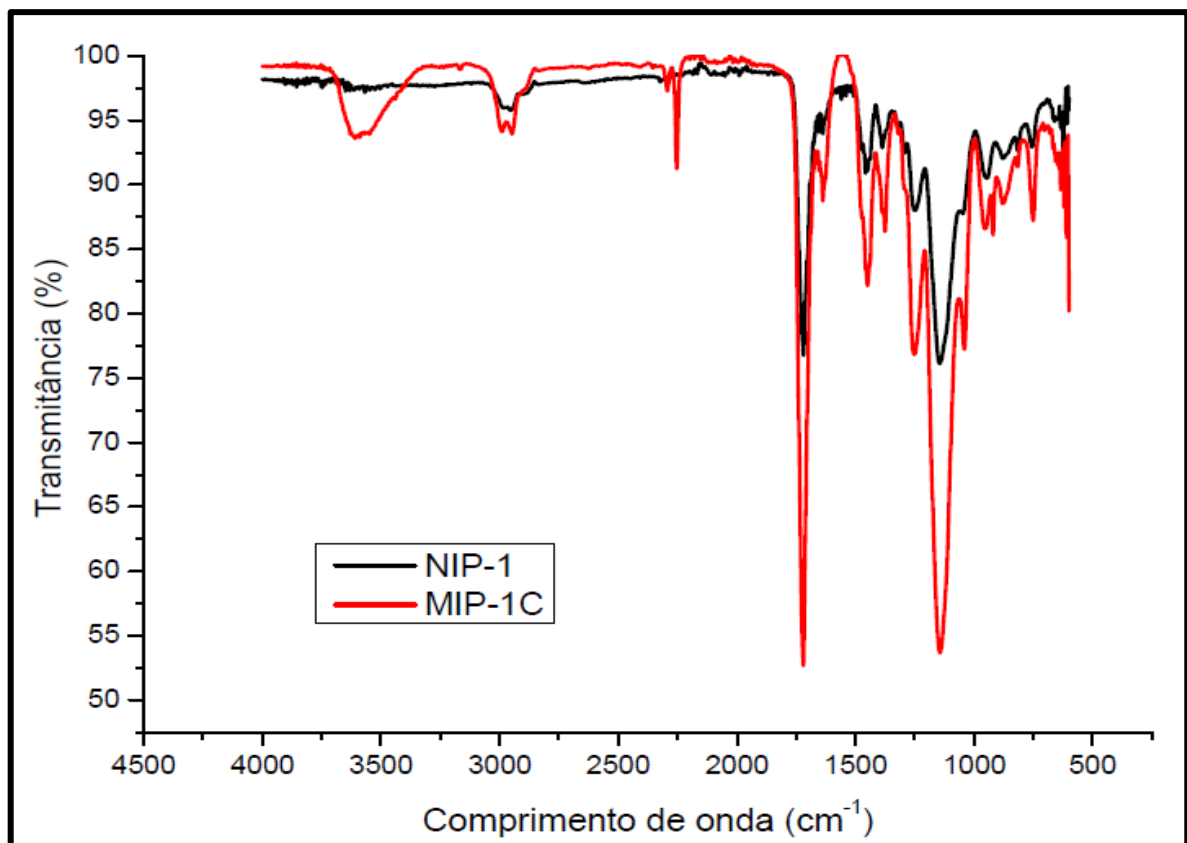
Fonte: Do autor.

Figura 18 - Espectro de absorção por FTIR do NIP-1 sintetizado.



Fonte: Do autor.

Figura 19 - Espectros de absorção por FTIR do NIP-1 e MIP-1C sobrepostos.



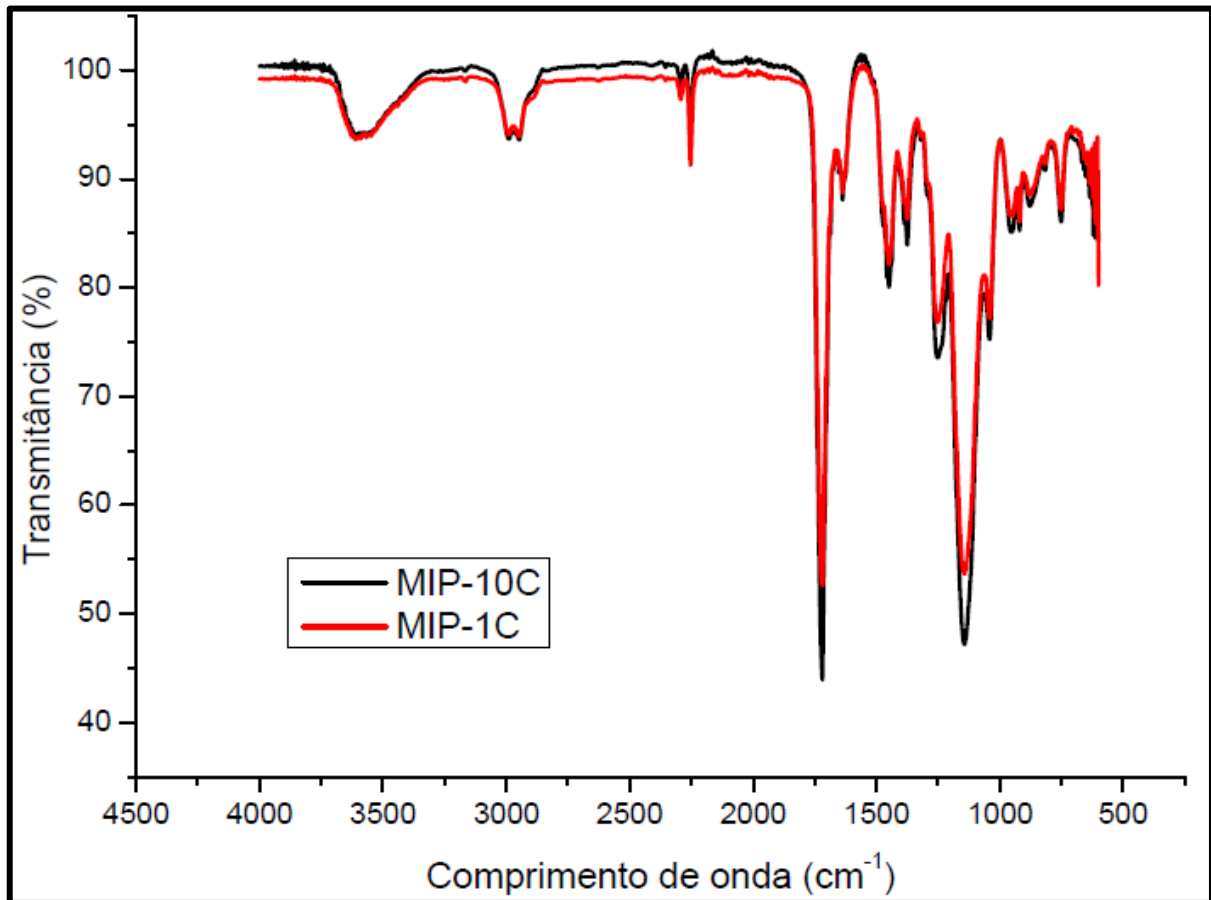
Fonte: Do autor.

A análise da espectroscopia molecular por FTIR evidenciou em ambos os polímeros (MIP-1C e NIP-1) as vibrações de estiramento (axial) abundante na região de 1720 cm^{-1} e sugestivo de ligação C=O (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2006), vibrações de dobramentos com média abundância de sinal na região de $1375\text{--}1465\text{ cm}^{-1}$ e sugestivo de dobramentos CH_2 e CH_3 (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2006). Na região “fingerprint” foi observado um pico na região de 1140 cm^{-1} correspondente a ligação C-O ou C-C (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2006).

Ao analisar e comparar os espectros obtidos por FTIR dos polímeros NIP-1 e MIP-1C pode-se evidenciar o surgimento de bandas fracas de estiramento OH na região de 3600 cm^{-1} , vibrações de estiramento de ligações $\text{C}\equiv\text{N}$ na região de 2250 cm^{-1} e um aumento de intensidade nas bandas de C=O em 1720 cm^{-1} e na região “fingerprint” na região de 1140 cm^{-1} (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2006).

O surgimento das respectivas bandas indica uma alteração estrutural do polímero MIP-1C quando comparado ao polímero NIP-1, o que é esperado uma vez que as estruturas moleculares observadas no espectro do MIP-1C sugerem a existência de sítios de ligação com as estruturas OH; $\text{C}\equiv\text{N}$ e C=O e ausentes no polímero sintetizado sem a molécula-molde (NIP) evidenciando a alteração estrutural desejável e obtida com a adição da cocaína no processo de síntese do MIP-1C.

Figura 20 - Espectros de absorção por FTIR do MIP-1C e MIP-10C sobrepostos.

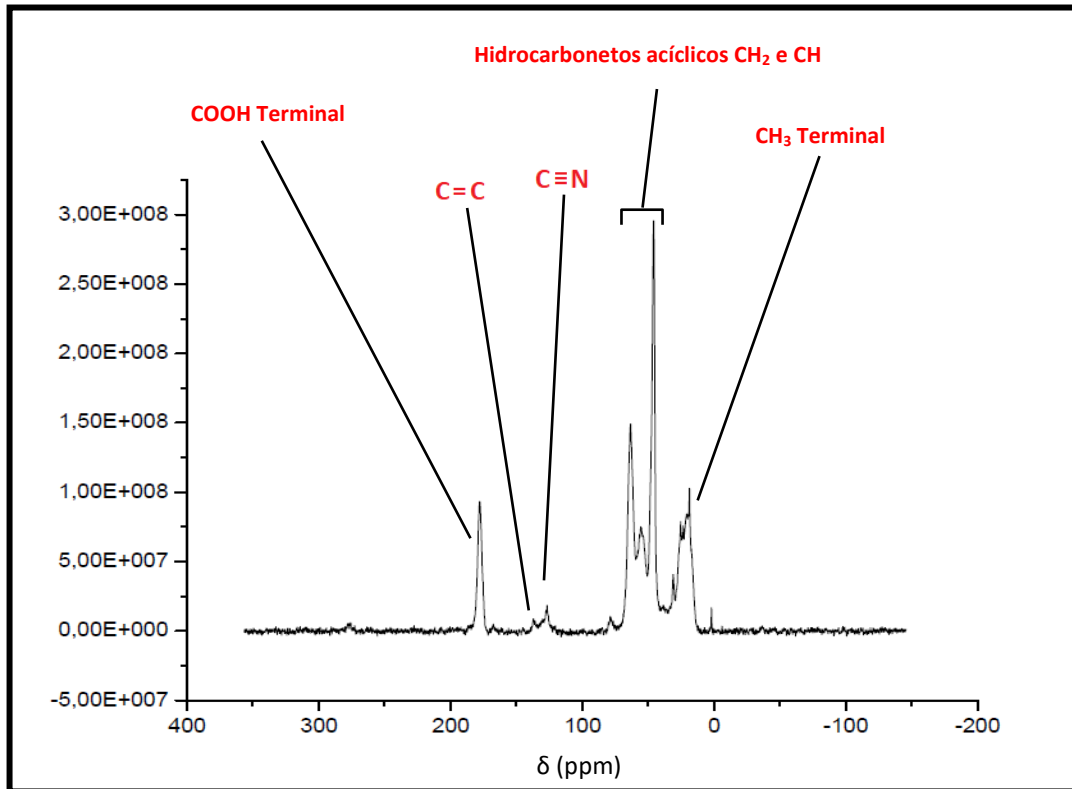


Fonte: Do autor.

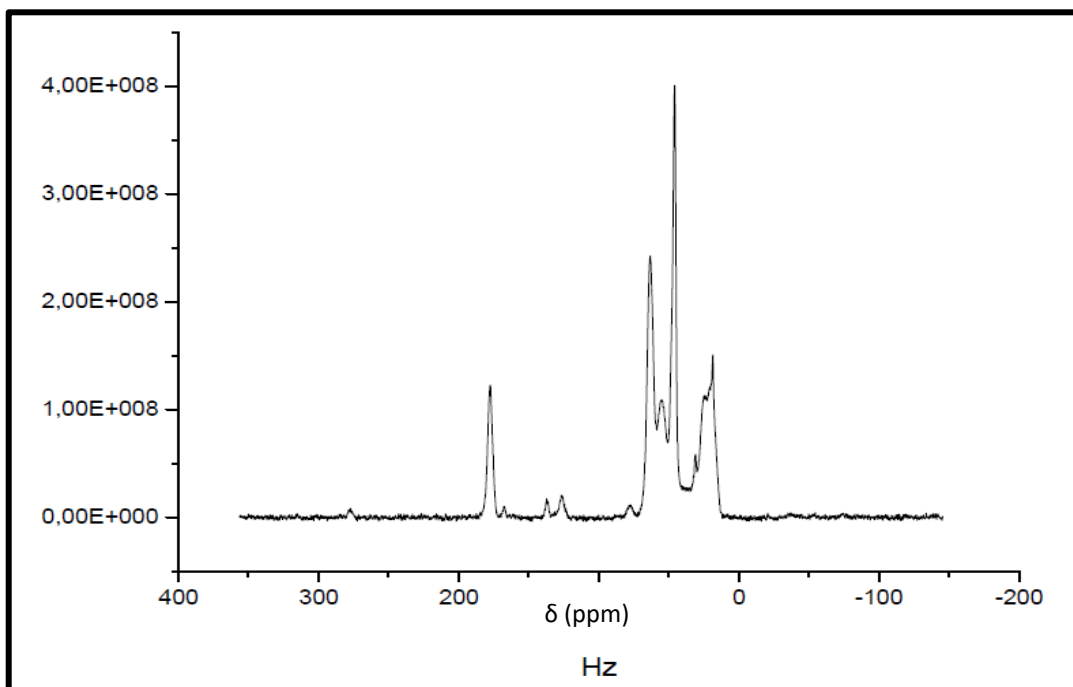
A análise comparativa dos espectros FTIR dos polímeros MIP-1C e MIP-10C (Figura 20) evidenciaram ausência de alterações significativas na estrutura dos dois polímeros e detectáveis pela técnica, o que permite concluir que a alteração do processo de síntese das condições da Tabela 3 para as condições da Tabela 4 não alterou a estrutura química do polímero obtido.

5.2.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Carbono ¹³C

A caracterização por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Carbono ¹³C foi possível ser realizada apenas nos polímeros NIP-1 e MIP-1S, motivo pelo qual os resultados dos espectros obtidos serão apresentados abaixo apenas como complementação:

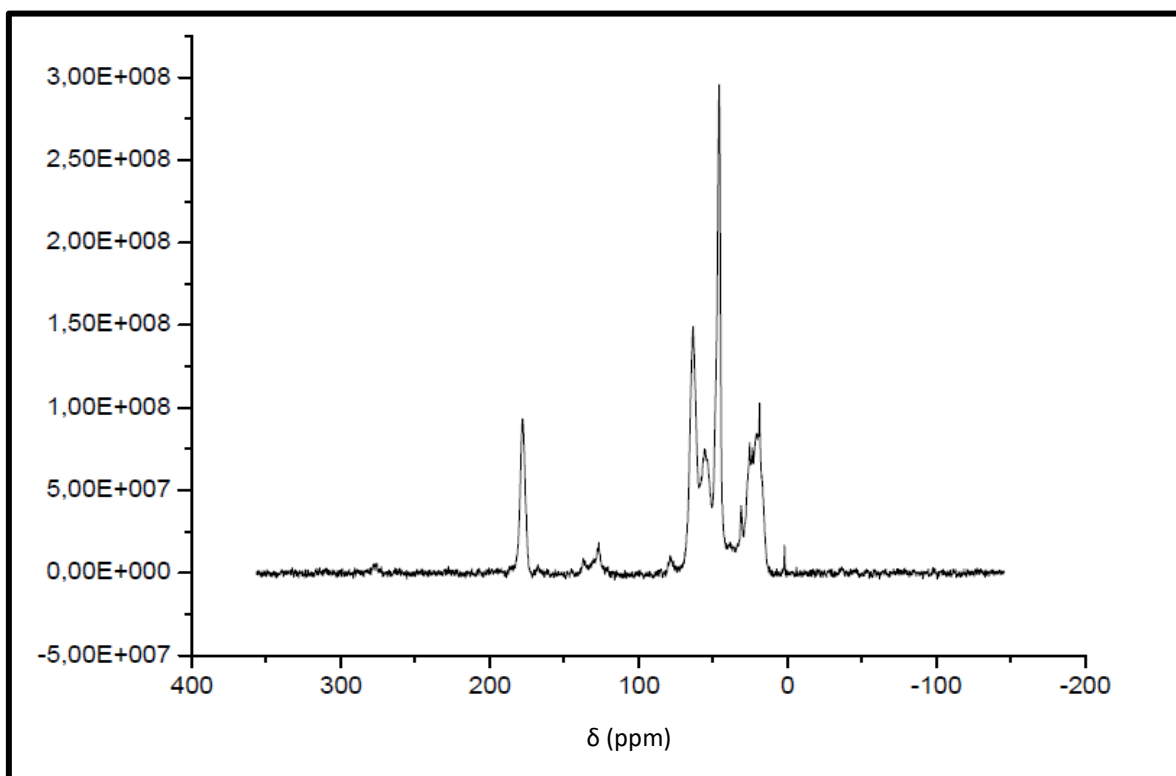
Figura 21 - Análise do espectro de RMN ^{13}C do MIP-1S

Fonte: Do autor.

Figura 22 - Espectro de RMN ^{13}C do NIP-1.

Fonte: Do autor.

Figura 23 - Espectro de RMN ^{13}C do MIP-1S.

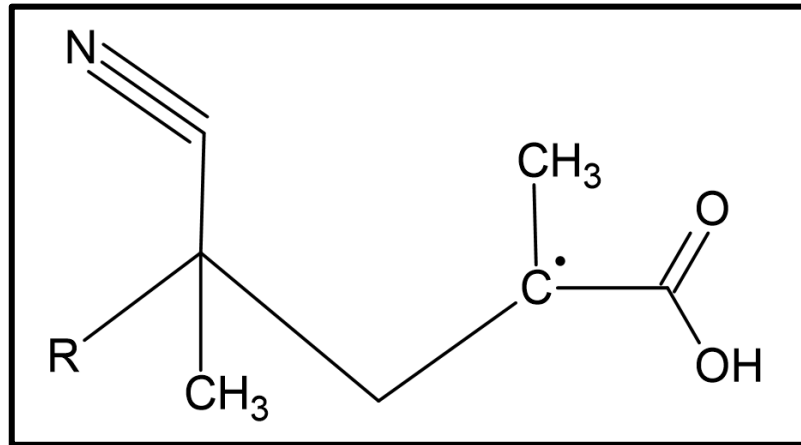


Fonte: Do autor.

A análise de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C do MIP-1S evidenciou deslocamento químico (ppm) na região de CH_3 terminal (8 a 35 ppm), Hidrocarbonetos acíclicos CH_2 e CH (faixa de 15 a 60ppm), Carbono $\text{C}=\text{C}$ ou $\text{C}\equiv\text{N}$ (faixa de 100 a 150ppm) e evidenciou a presença característica do grupamento COOH na faixa de 175 a 185 ppm. (SILVERSTEIN *et al.*, 2006).

A interpretação do espectro de FTIR e RMN ^{13}C do MIP-1S aliada às estruturas moleculares dos reagentes presentes no meio reacional permitiram sugerir uma estrutura molecular do polímero formado conforme abaixo:

Figura 24 - Possível estrutura molecular do monômero do polímero MIP-1S com base nos espectros de FTIR e RMN ^{13}C .



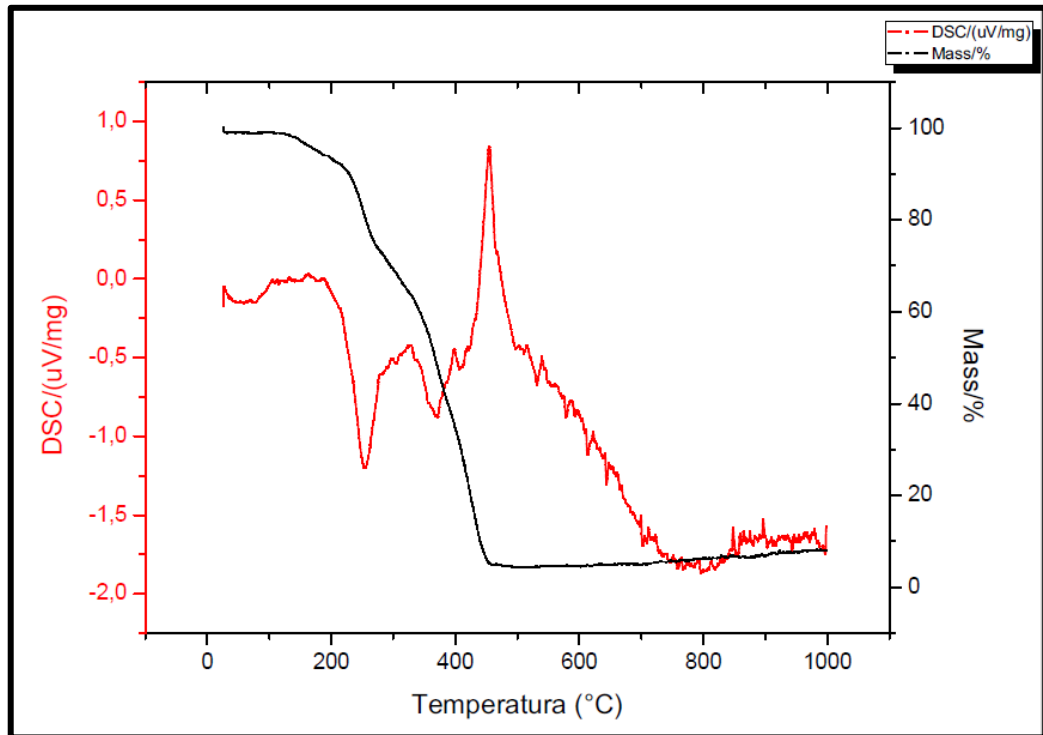
Fonte: Do autor.

5.2.3 Análises Termogravimétricas (TGA) e Calorimetrias Exploratórias Diferenciais (DSC)

A análise das curvas termogravimétricas dos polímeros (Figuras 25, 26 e 27) permite observar que não houve perda significativa de massa até 120°C, o que possibilitou alterar o protocolo de síntese assistida por micro-ondas e definir o limite de temperatura da síntese em 110°C preservando a estabilidade térmica dos polímeros. A partir de 120°C houve uma perda de massa gradativa e equivalente em todos os polímeros.

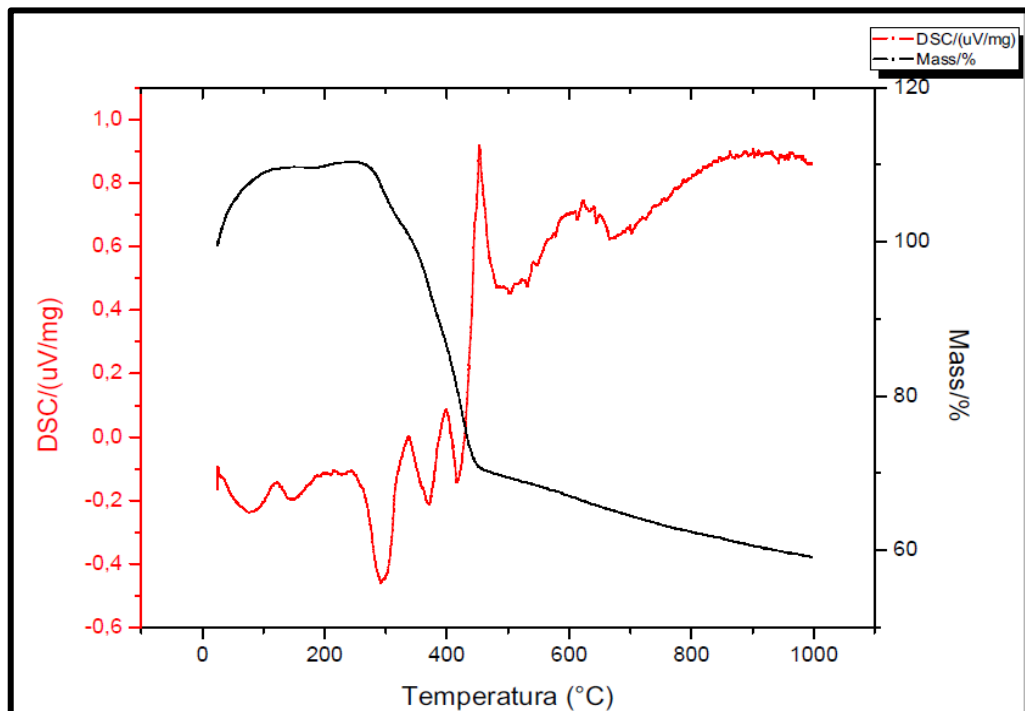
Ao analisar as curvas de DSC observa-se um evento exotérmico em, aproximadamente 500 °C devido, provavelmente, à liberação de energia por fusão ou degradação do polímero, oxidação com degradação do polímero pela perda de massa, que ocorreu em todos os polímeros, porém, de formas diferentes e com significativa alteração no MIP-1C, que demonstrou uma estabilidade maior quando comparado ao NIP-1 (Figura 28) e provavelmente em razão da polimerização mais eficiente ocorrida em torno da molécula-molde (COC).

Figura 25 - STA do NIP-1 com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, Nitrogênio como gás de purga a um fluxo de 100mL min^{-1} e em cadinho de platina.



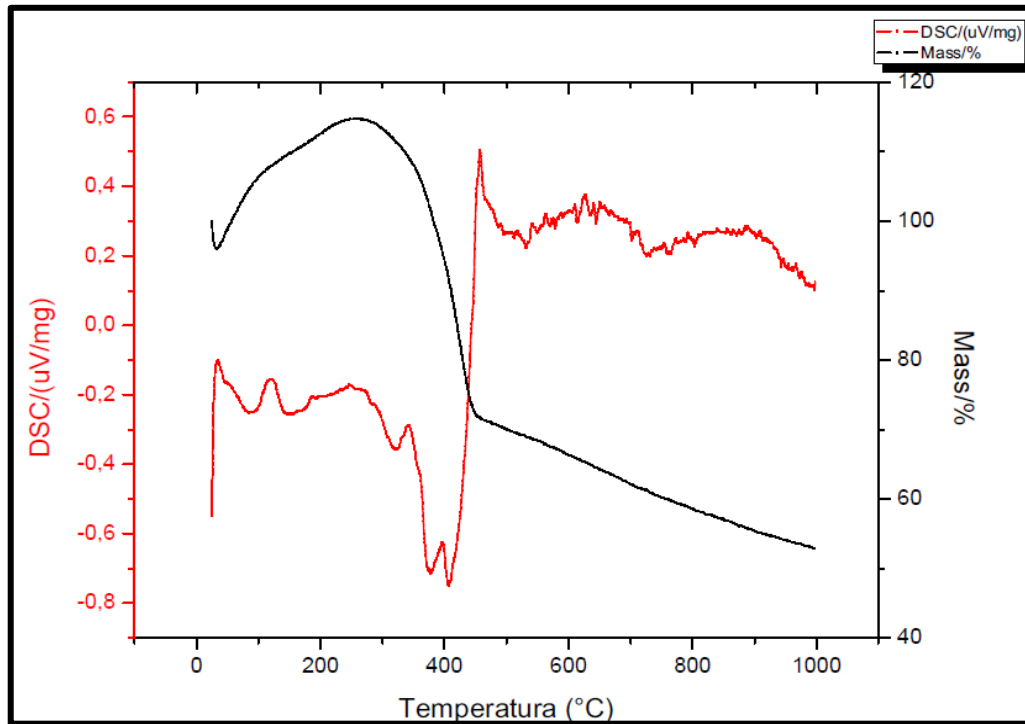
Fonte: Do autor.

Figura 26 - STA do NIP-5 com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, Nitrogênio como gás de purga a um fluxo de 100mL min^{-1} e em cadinho de platina.



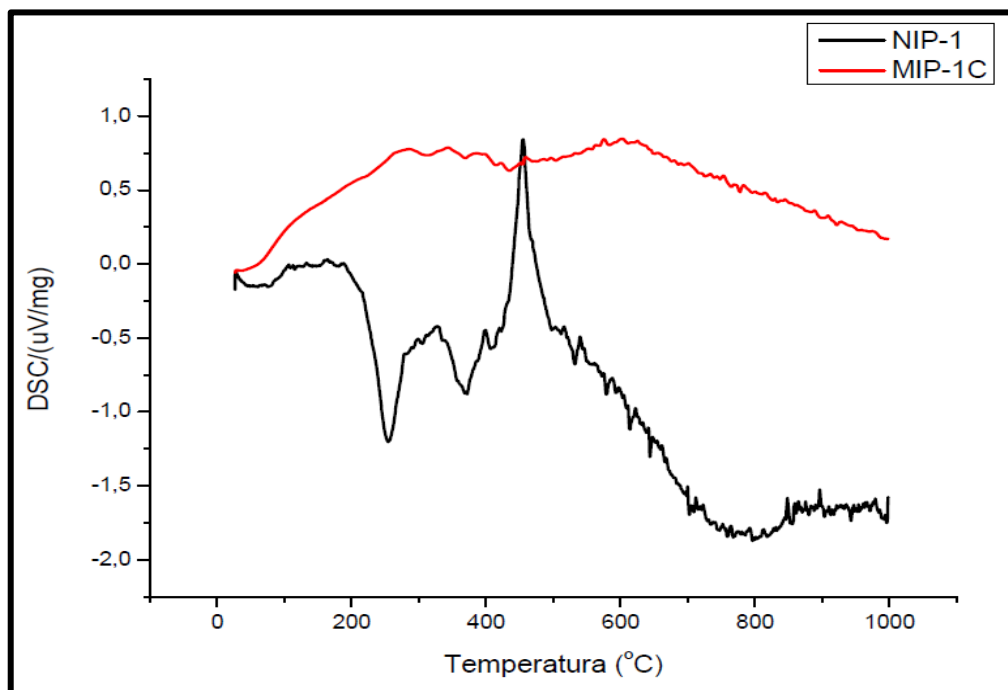
Fonte: Do autor.

Figura 27 - STA do MIP-2S com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, Nitrogênio como gás de purga a um fluxo de 100mL min^{-1} e em cadinho de platina.



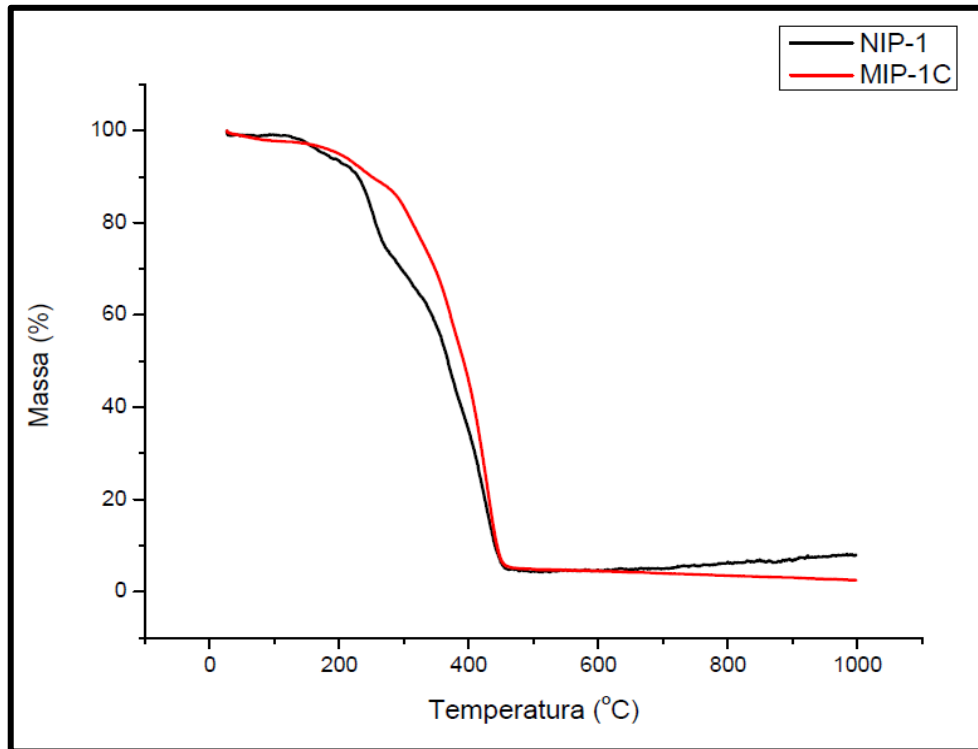
Fonte: Do autor.

Figura 28 - DSC comparativa em função da temperatura dos polímeros NIP-1 e MIP-1C e nas mesmas condições.



Fonte: Do autor.

Figura 29 - Perda de massa comparativa em função da temperatura dos polímeros NIP-1 e MIP-1C e nas mesmas condições.



Fonte: Do autor.

5.2.4 Análise de Área Superficial (BET)

Os resultados dos estudos de análise de área superficial (BET) e diâmetro dos poros dos polímeros sintetizados estão descritos nas Tabelas 6 e 7. Os resultados de área superficial evidenciaram que o aumento da potência de 80W para 100W na etapa de permanência resultou em uma área superficial maior para todos os NIPs e, mesmo em 15 min. de síntese a 100W (NIP-6), a área superficial foi maior que em todas as sínteses a 80W (NIP-1, NIP-2 e NIP-3). Essa maior área superficial observada para os NIPs sintetizados com potência na etapa de permanência pode ser resultante da maior movimentação dos íons durante a síntese o que, potencialmente, favoreceria a processo de nucleação.

Tabela 6 - Medidas de área superficial BET para os polímeros sintetizados em potência de manutenção de 80W.

	NIP-1	NIP-2	NIP-3	MIP-10C
Área				
superficial	1,7939	8,4898	5,6182	67,8438
(BET) m ² /g				

Fonte: Do autor.

Tabela 7 - Medidas de área superficial BET para os polímeros sintetizados em potência de manutenção de 100W.

	NIP-5	NIP-6	MIP-1S	MIP-2S	MIP-3S	MIP-1C
Área						
superficial	13,3538	8,9638	4,4014	7,6468	6,4913	41,1976
(BET) m ² /g						

Fonte: Do autor.

A adição de moléculas-molde teve influência direta na área superficial dos polímeros, sendo que a adição de Sertralina e Cocaína resultaram em áreas superficiais maiores presumivelmente pela interação da molécula-molde durante o processo de polimerização e pela formação dos sítios de ligação nos polímeros formados.

O maior aumento de área superficial foi obtido quando limitamos a temperatura do processo com base na temperatura de ebulição do solvente porogênico (Acetonitrila), 82°C, e realizar o ajuste nos parâmetros de síntese para evitar a evaporação do solvente no interior do frasco reacional. Mesmo em ambiente fechado (tubo de PFA) temperaturas acima de 82 °C podem evaporar a Acetonitrila (solvente porogênico) e se concentrar na porção superior do tubo e distante do meio reacional onde ocorre a polimerização, reduzindo a formação de poros e, conseqüentemente, reduzindo a área superficial das partículas. Foi realizado ajustes nos parâmetros de

síntese para os parâmetros da Tabela 4 com intuito da temperatura de síntese não ultrapassar 80 °C e mantendo todas as outras condições de síntese e ao comparar as áreas superficiais do MIP-1C e MIP-10C houve um aumento de 65% em relação à área superficial BET, possivelmente devido a maior controle da temperatura no processo o que favoreceu a ação do agente porogênico e do processo de nucleação na síntese (KAPPE, 2004; KUMAR *et al.*, 2020).

5.3 Resultados dos ensaios de adsorção e dessorção de cocaína

Os ensaios para remoção das moléculas-molde (dessorção) bem como os ensaios de adsorção foram realizados conforme esquemas constantes nas Figuras 8, 9 e 10 e as amostras das soluções extraídas dos processos para quantificação de cocaína estão listadas pelos números de 1 a 19 nas respectivas figuras.

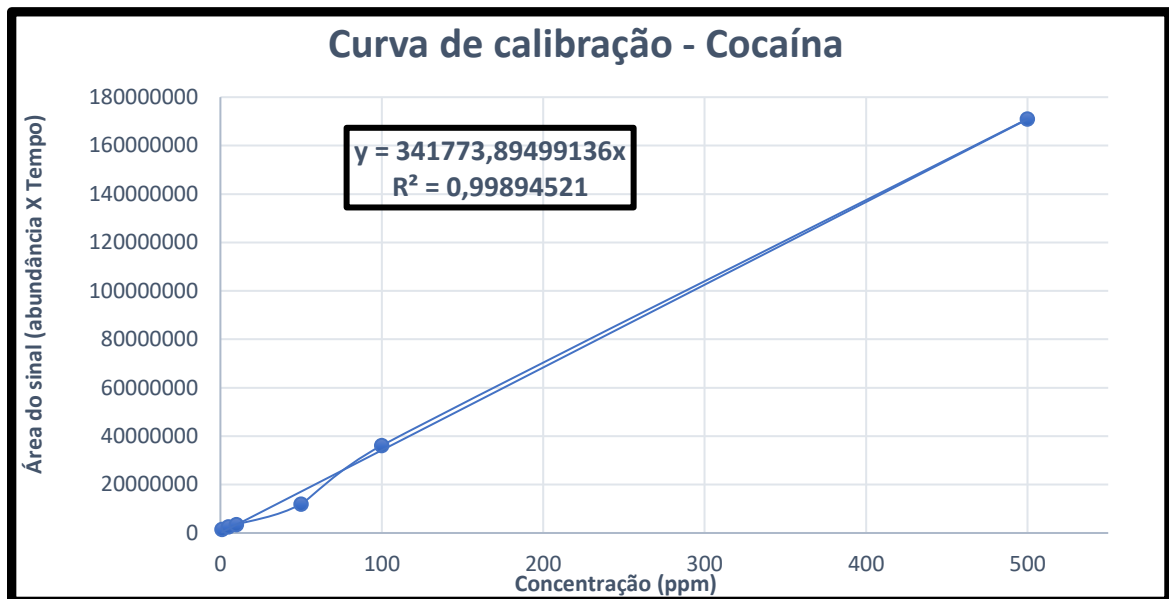
Para quantificação de cocaína foi realizada uma curva de calibração no CG-MS. A curva de calibração para o *tune* do equipamento no qual as análises foram realizadas utilizando-se o padrão MRC de Cocaína fornecido pela Superintendência de Polícia Técnico-Científica da Polícia Civil de Minas Gerais. Foram selecionados seis níveis de concentração em triplicata para cada concentração e para cada nível um branco em triplicata, utilizando Metanol grau HPLC como solvente ou branco e gás Hélio 5.0 como gás de arraste e os valores obtidos para a curva de calibração foram os constantes na Tabela 8.

Tabela 8 - Valores obtidos para a curva de calibração.

Média das áreas dos picos de cocaína (Abundância x min)	Concentração (mg L⁻¹)	Tempo de Retenção (minutos)
1512256	1	3,884
2551730	5	3,878
3508604	10	3,882
11949388	50	3,880
36147036	100	3,887
170994362	500	3,887

Fonte: Do autor.

Figura 30 - Curva de calibração para cocaína no CGMS em condições cromatográficas descritas no item 4.2.



Fonte: Do autor.

A curva de calibração para cocaína obtida resultou em coeficiente de correlação linear (R^2) de 0,9989 para o nível de confiança de 95%.

As amostras de branco (frascos *vial* contendo apenas o solvente Metanol) foram preparados para cada nível da curva de calibração (1, 5, 10, 50, 100 e 500 mg L⁻¹) e analisados em triplicata e para cada nível da curva e a média dos sinais emitidos pelo equipamento no intervalo de tempo de retenção definido de 3,7 a 4 min. para cada nível de concentração estão descritas na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores obtidos para os brancos da curva de calibração.

Média das áreas dos picos (Abundância x min)	Intervalo de tempo de Retenção (minutos)
151659	3,7 a 4,0
255892	3,7 a 4,0
185556	3,7 a 4,0
260793	3,7 a 4,0
293930	3,7 a 4,0
292970	3,7 a 4,0

Fonte: Do autor.

O desvio padrão dos sinais dos “brancos” foi de 58595,81 e com base nesses sinais e na curva de calibração pode-se calcular os valores do limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) para o método desse estudo e para diversas amostras e os resultados obtidos foram $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,71 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

As quantificações dos estudos de adsorção e dessorção de cocaína utilizando o MIP-1C e MIP-10C foram calculadas utilizando-se a curva de calibração acima descrita e os ensaios foram realizados conforme esquemas descritos nas Figuras 8, 9 e 10 e as soluções extraídas dos processos para quantificação de cocaína estão listadas pelos números de 1 a 19 nas respectivas figuras. Para resultados maiores que 500 mg L^{-1} as soluções foram diluídas, analisadas novamente e os resultados calculados e apresentados na Tabela 10.

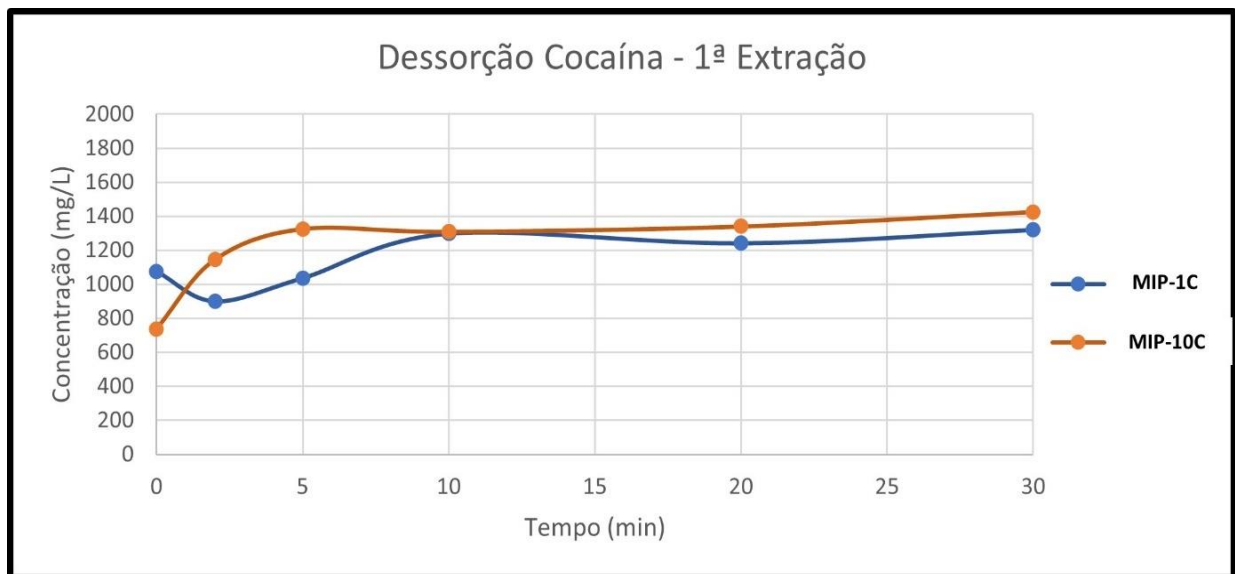
Ao analisar os resultados obtidos no estudo de adsorção/dessorção foi possível avaliar os MIPs obtidos no processo de síntese assistida por micro-ondas proposto no trabalho. A água Milli-Q da primeira lavagem (10mL por 10 min.) indica a existência de cocaína em excesso, aderida superficialmente aos polímeros MIP-1C e MIP-10C. Considerando que tanto na primeira quanto na segunda lavagens foram utilizados 10mL de água Milli-Q e pela concentração obtida (soluções 1 e 2 da Tabela 10) pode-se calcular que houve uma remoção de 6,52mg de cocaína nas duas primeiras lavagens do MIP-1C e uma remoção de 4,06mg de cocaína do MIP-10C. Como foram adicionados 20mg de cocaína para ambas as sínteses pode-se afirmar que houve uma remoção de 32,6% de cocaína nas duas lavagens do MIP-1C e de 20,3% para o MIP-10C.

Após a limpeza dos MIPs foi realizado o processo de extração com solução de Acetonitrila e Ácido Acético (9:1), utilizando o mesmo volume empregado para a extração com água (10mL) nos tempos 0, 2, 5, 10, 20 e 30 min. em agitação magnética. Pode-se observar que na extração do MIP-1C houve uma oscilação na concentração de cocaína da solução até dez minutos e a partir de dez minutos houve uma estabilização na concentração e já no MIP-10C esta estabilização ocorreu antes, a partir de cinco minutos.

Após as duas lavagens dos MIPs ainda havia 13,48mg de cocaína no MIP-1C e foram removidos 76,8% dessa cocaína em 5 min. e no MIP-10C haviam 15,94mg de cocaína e 83,2% dessa cocaína foi removida em 5min. Considerando a

concentração ao final do processo pode-se concluir que houve uma remoção de 13,2mg de cocaína do MIP-1C (97,9%) e de 14,26mg de cocaína do MIP-10C (89,5%) ao final de trinta min. da primeira extração com Acetonitrila : Ácido Acético.

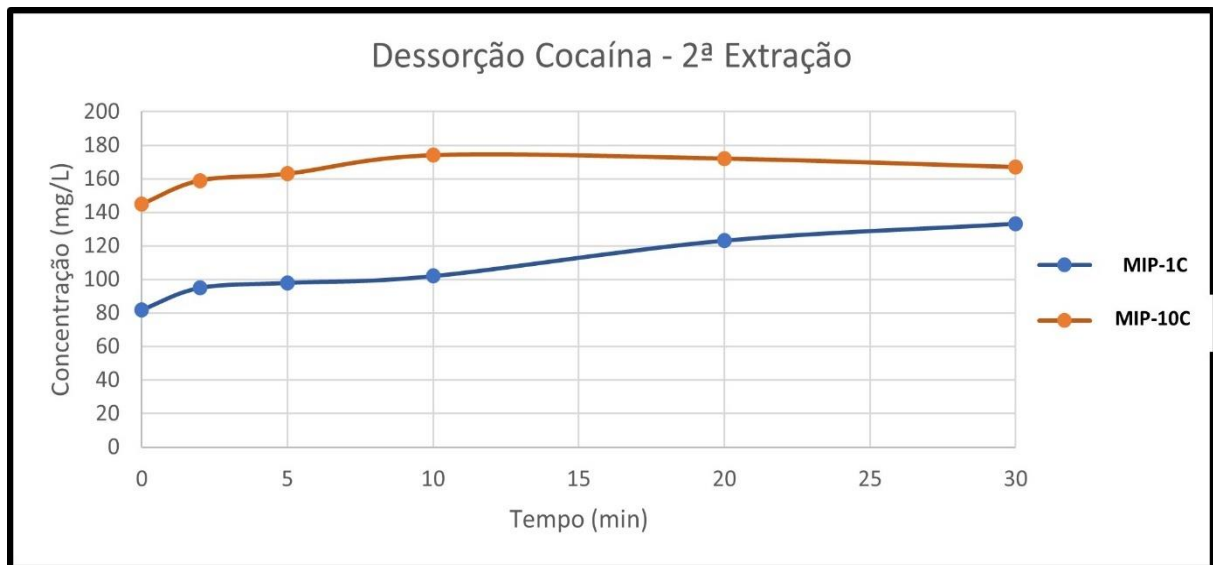
Figura 31 - Curva de dessorção de cocaína na 1ª Extração com Acetonitrila:Ácido Acético.



Fonte: Do autor.

Para a segunda extração (dessorção da cocaína) foi realizada uma filtragem dos polímeros e adicionado nova solução (10mL) de Acetonitrila/Ácido Acético (9:1) e determinado a concentração de cocaína no intervalo de tempo estudado na primeira extração (0 a 30 min). Pode-se concluir que a concentração de cocaína na solução reduziu para menos de 10% no tempo zero da segunda extração quando comparado ao tempo zero da primeira extração e houve também uma redução da variação da concentração em relação ao tempo sob agitação.

Figura 32 - Curva de dessorção de cocaína na 2ª Extração com Acetonitrila:Ácido Acético.



Fonte: Do autor.

Os resultados obtidos corroboram para conclusão que aproximadamente 95% da cocaína ligada ao MIP-1C durante o processo de síntese é extraída com dez minutos e 83% da cocaína ligada ao MIP-10C com a primeira extração com Acetonitrila : Ácido Acético (9:1).

Ao se calcular a quantidade de cocaína removida dos polímeros MIP-1C e MIP-10C com a quantidade adicionada na síntese (20 mg) pode-se concluir que do MIP-1C foram removidos 6,52 mg de cocaína nas duas primeiras lavagens com água, 13,2 mg na primeira extração e 1,33 mg na segunda extração (Acetonitrila/Ácido acético) totalizando 21,05 mg de cocaína removida do MIP-1C. Já no MIP-10C foram removidos 4,06 mg de cocaína nas duas primeiras lavagens, 14,26 mg na primeira extração e 1,67 mg na segunda extração, totalizando 19,99 mg de cocaína removida. Esse balanço de massas obtido nos processos de extração demonstra a eficiência do processo de incorporação na etapa de síntese e a adequada remoção da molécula molde (analito) uma vez que as extrações foram de aproximadamente 105% (MIP-1C) e 100% (MIP-10C). A variação de quantidade maior de cocaína extraída do MIP-1C em relação à quantidade adicionada na síntese pode ser explicada pela variação do cálculo em razão da curva de calibração utilizada no presente estudo, onde, a

dependem da concentração, há uma variação positiva ou negativa em relação à quantidade real, pelo ajuste na confecção da curva de calibração.

Tabela 10 - Valores de concentração de cocaína (mg L^{-1}) em cada solução obtidos pela técnica CG-MS nas condições constantes no item 4.2.

Amostras analisadas após processo de extração utilizando o MIP	Concentração de cocaína (mg L^{-1})
1: Água Milli-Q da primeira lavagem do MIP-1C.	369
1: Água Milli-Q da primeira lavagem do MIP-10C.	280
2: Água Milli-Q da segunda lavagem do MIP-1C.	283
2: Água Milli-Q da segunda lavagem do MIP-10C.	126
3: MIP-1C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo zero	1076
3: MIP-1C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 2 min.	899
3: MIP-1C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 5 min.	1035
3: MIP-1C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 10 min.	1298
3: MIP-1C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 20 min.	1241
3: MIP-1C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 30 min.	1320
3: MIP-10C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo zero	738
3: MIP-10C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 2 min.	1146
3: MIP-10C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 5 min.	1326
3: MIP-10C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 10 min.	1310
3: MIP-10C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 20 min.	1341
3: MIP-10C – 1ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 30 min.	1426
4: MIP-1C – 2ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo zero	82
4: MIP-1C – 2ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 2 min.	95
4: MIP-1C – 2ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 5 min.	98
4: MIP-1C – 2ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 10 min.	102
4: MIP-1C – 2ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 20 min.	123
4: MIP-1C – 2ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 30 min.	133
4: MIP-10C – 2ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo zero	145
4: MIP-10C – 2ª Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 2 min.	159

Tabela 10 - Valores de concentração de cocaína (mg L⁻¹) em cada solução obtidos pela técnica CG-MS nas condições constantes no item 4.2.

(continuação)

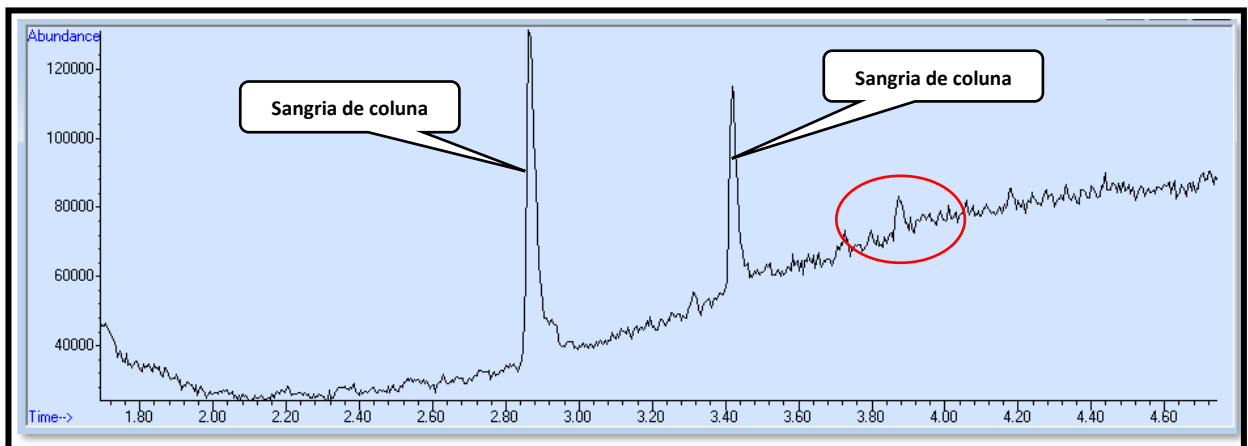
Amostras analisadas após processo de extração utilizando o MIP	Concentração de cocaína (mg L⁻¹)
4: MIP-10C – 2 ^a Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 5 min.	163
4: MIP-10C – 2 ^a Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 10 min.	174
4: MIP-10C – 2 ^a Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 20 min.	172
4: MIP-10C – 2 ^a Extração com ACN: Ác. Acético – Tempo 30 min.	167
5: MIP-1C – 1 ^a Extração com Metanol – Tempo 10 min.	15
5: MIP-10C – 1 ^a Extração com Metanol – Tempo 10 min.	12
6: MIP-1C – 2 ^a Extração com Metanol – Tempo 10 min.	0
6: MIP-10C – 2 ^a Extração com Metanol – Tempo 10 min.	0
7: Amostra de água superficial de Mariana “ <i>in natura</i> ”	0
8: Água de Mariana adicionada com 150 mg de MIP-1C	0
9: Água de Mariana c/ 5 mg L ⁻¹ de Cocaína e 150 mg de MIP-1C	0
10: Água de Mariana adicionada com 150 mg de MIP-10C	0
11: Água de Mariana c/ 5mg L ⁻¹ de Cocaína e 150 mg de MIP-10C	0
12: MIP-1C filtrado da solução 8 e após extração com Metanol	0
13: MIP-1C filtrado da solução 9 e após extração com Metanol	14
14: MIP-10C filtrado da solução 10 e após extração com Metanol	0
15: MIP-10C filtrado da solução 11 e após extração com Metanol	15
16: Água c/ 162,1 mg de Cocaína e adição de 310 mg de MIP-1C	3121,2
17: Água c/ 163,6 mg de Cocaína e adição de 310 mg de MIP-10C	3119,7
18: MIP-1C filtrado da solução 16 e após extração com Metanol	1415,6
19: MIP-10C filtrado da solução 17 após extração com Metanol	1419,2

Fonte: Do autor.

Um ponto importante é em relação à garantia de ausência de molécula molde, utilizada no processo de síntese assistida por micro-ondas, quando da utilização dos MIPs em amostras reais, uma vez que havendo ainda moléculas utilizada como molde

no processo de síntese e aderidas ao polímero estas podem ser extraídas e erroneamente consideradas como oriundas da amostra em análise. Como o solvente padrão utilizado na técnica CG-MS é o metanol, foram realizadas mais duas extrações com 10mL de Metanol grau HPLC por dez minutos cada para eliminar qualquer potencial resíduo de cocaína dos MIPs. Na segunda extração dos polímeros MIP-1C e MIP-10C pode-se garantir que não havia mais moléculas de cocaína passíveis de serem extraídas dos polímeros e quantificadas por CG-MS (Figura 33).

Figura 33 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 para o extrato (MeOH) do MIP-10C após 4 extrações com 10mL (ACN:Ác. Acético e MeOH) evidenciando sinal analítico abaixo do LOD em TR compatível com cocaína (3,88).

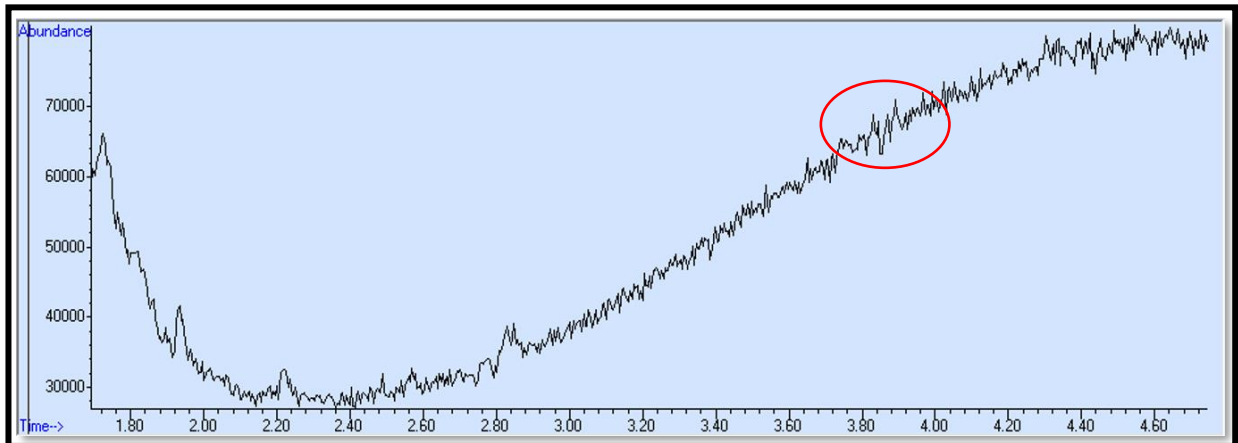


Fonte: Do autor.

O processo de remoção da molécula-molde acima descrito foi realizado para todo o polímero sintetizado (MIP-1C e MIP-10C) e então foram separadas quantidades em massa para as caracterizações e os ensaios de adsorção em solução padrão e amostras reais. Os ensaios de adsorção foram realizados conforme descrito na Figura 9 e estudos em amostras ambientais (água superficial coletada do desastre ambiental ocorrido na cidade de Mariana-MG). Primeiramente, foi realizada a análise “*in natura*” da amostra e verificado a ausência de cocaína (Figura 34). A ausência de sinal analítico no tempo de retenção da cocaína demonstra que a eventual presença de cocaína na amostra encontra-se abaixo do limiar de detecção do método. Em seguida, foram separadas quatro alíquotas de 10 mL cada e analisado os resultados,

comparativamente, da ação de remoção de cocaína do meio pelos polímeros (MIP-1C e MIP-10C) e comparada com os respectivos controles (sem adição de cocaína).

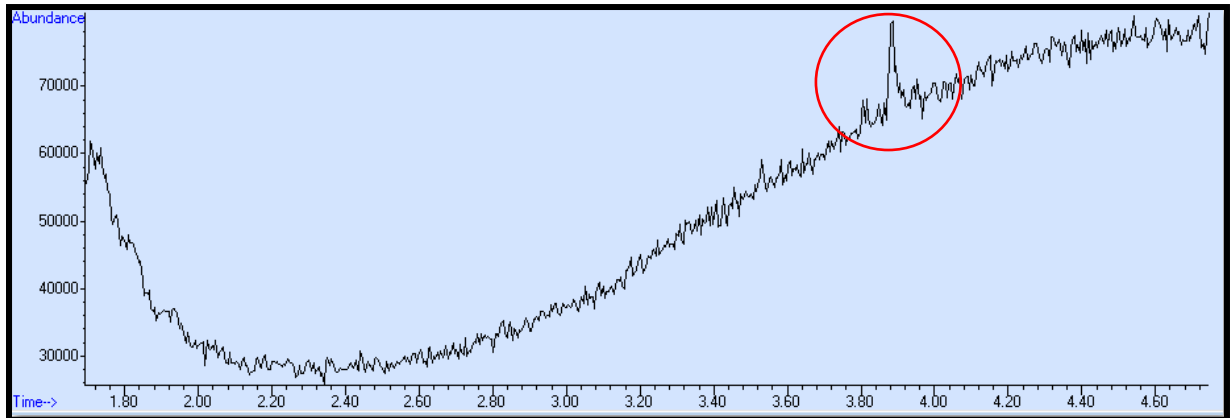
Figura 34 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 para análise da água superficial “*in natura*” colhida no desastre ambiental ocorrido na cidade de Mariana (MG) e ausência de sinal analítico compatível com cocaína.



Fonte: Do autor.

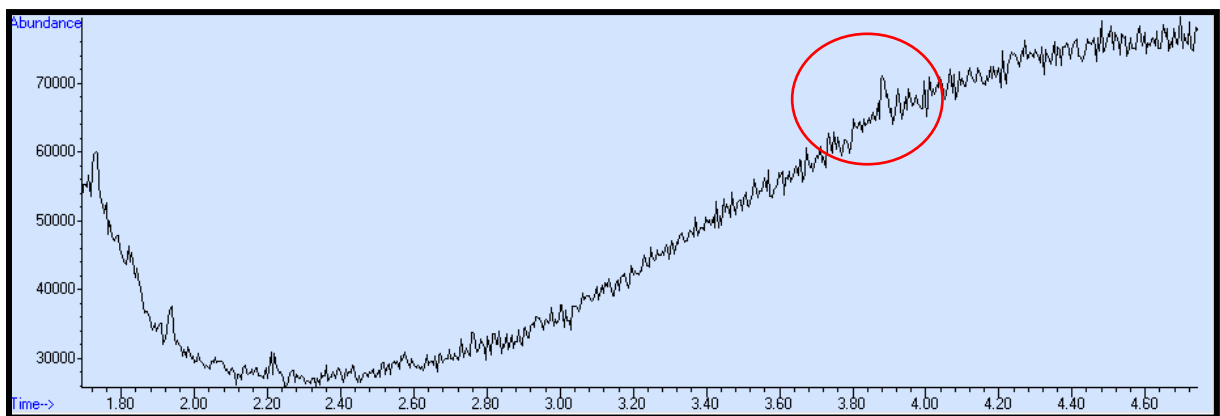
Os resultados das quatro alíquotas evidenciaram que as amostras controle, sem adição de cocaína, não apresentaram sinal analítico detectável para cocaína tanto nas soluções de origem (soluções 8 e 10 da Figura 9) quanto nos extratos obtidos após extração com Metanol (soluções 12 e 14 da Figura 9). Os resultados da análise das soluções 9 e 11 (ausência de sinal analítico detectável para cocaína na solução) evidenciam a capacidade de remoção de cocaína do meio por parte dos polímeros MIP-1C e MIP-10C, onde após a adição de 0,05 mg de cocaína ao meio sem a adição dos MIPs pode-se observar a presença do analito em concentração compatível com a adicionada (5mg L^{-1}). Entretanto, após a adição dos polímeros e agitação por 20 min. não foi mais possível a identificação e/ou quantificação da cocaína no meio reacional, conforme Figuras 35 e 36, o que demonstra a capacidade dos MIPs de remover a cocaína do meio aquoso, mesmo em baixas concentrações.

Figura 35 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 da água de Mariana adicionada com cocaína para 5ppm e presença de sinal analítico compatível com cocaína.



Fonte: Do autor.

Figura 36 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 da água de Mariana adicionada com cocaína para 5 mg L⁻¹ e após adição de 150 mg do MIP-10C e ausência de sinal analítico compatível com cocaína.

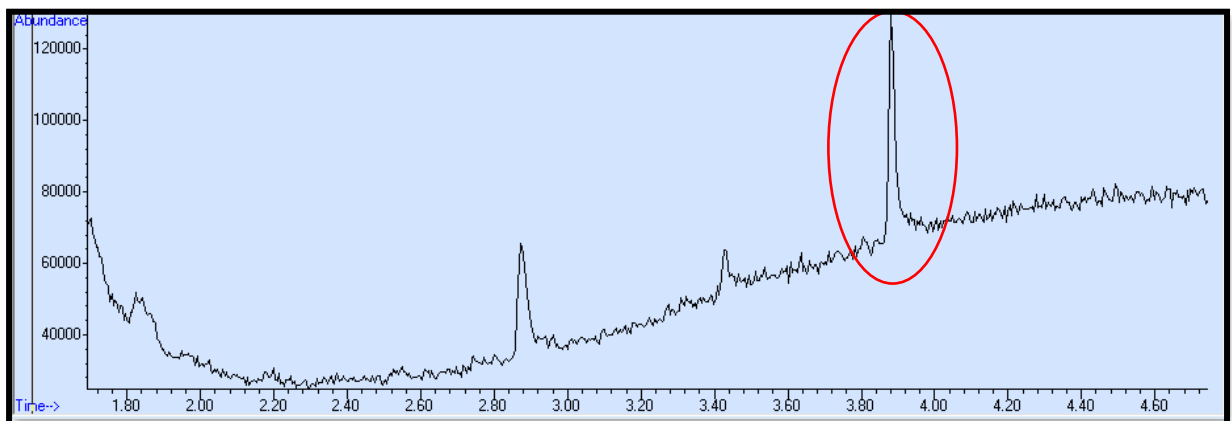


Fonte: Do autor.

Após filtragem das soluções e secagem dos polímeros foi realizada a extração com 3 mL de Metanol e em seguida realizada a análise do extrato obtido. Os resultados das quantificações de cocaína nas soluções 13 e 15 (Tabela 10) evidenciaram uma concentração de 14 mg L⁻¹ (3mL) o que equivale a uma quantidade de 0,042 mg de cocaína e como havia adicionado previamente 0,05 mg houve uma

taxa de recuperação de 84% para o MIP-1C. A concentração de 15 mg L⁻¹ (Figura 37) para a solução 15 equivale a 0,045 mg de cocaína e uma taxa de recuperação de 90% para o MIP-10C. A taxa de recuperação levemente maior do MIP-10C pode ser explicada pela maior área superficial quando comparado ao MIP-1C.

Figura 37 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 do extrato de Metanol (3mL) após extração realizada no MIP-10C e que havia entrado em contato com água de Mariana adicionada com cocaína para 5 mg L⁻¹.



Fonte: Do autor.

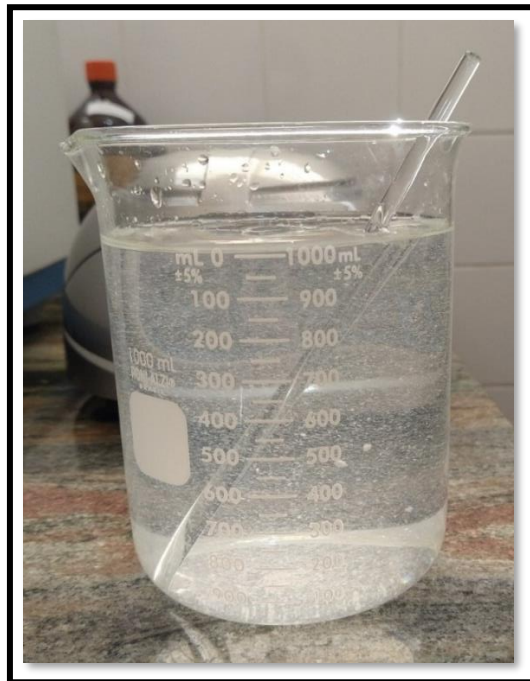
Os ensaios realizados conforme descrito na Figura 10 buscaram analisar o comportamento dos polímeros em alta concentração de cocaína e a capacidade máxima de remoção de cocaína por parte dos MIP-1C e MIP-10C. Os resultados da quantificação de cocaína nas soluções 18 e 19 foram de 1415,6 mg L⁻¹ e 1419,2 mg L⁻¹ para os MIP-1C e MIP-10C, respectivamente, o que representa uma quantidade de 4,24 mg e 4,26 mg de cocaína em 3 mL de extrato, respectivamente, para os MIPs.

Para esse estudo foram adicionados 310 mg dos polímeros, assim pode-se definir que a capacidade máxima de remoção de cocaína dos MIP-1C e MIP-10C é de 1,36% (4,24mg de cocaína para 310mg de MIP-1C) e 1,37% (4,26mg de cocaína para 310mg de MIP-10C) dos respectivos pesos.

5.4 Resultado da quantificação de cocaína em amostra de esgoto urbano de Poços de Caldas (MG).

Os MIPs foram avaliados empregando amostras reais complexas e para esse estudo cocaína foi quantificada em amostra de esgoto urbano de Poços de Caldas (MG). Conforme descrito na Figura 11 foi realizada a análise em amostra real de esgoto urbano do município de Poços de Caldas (MG). Um litro de amostra foi filtrado em papel filtro para remoção de partículas sólidas ainda presentes na amostra e adicionado 270 mg do MIP-10C (após confirmação de ausência de cocaína oriunda do processo de síntese) e mantido sob agitação por 30 min.

Figura 38 - Amostra de esgoto urbano coletado após tratamento pela ETE e após adição de 270 mg do MIP-10C.

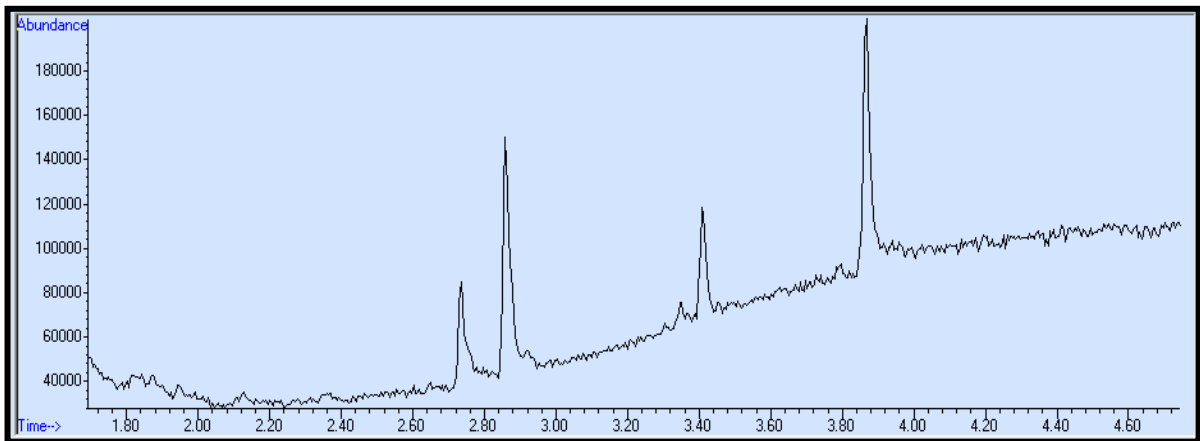


Fonte: Do autor.

Após 30 min foi realizada a filtragem da solução em papel filtro e recolhimento do MIP-10C, que foi seco e em seguida realizada a extração com 3 mL de Metanol, sob agitação por 30 min, o extrato foi analisado em CG-MS e o resultado apresentado

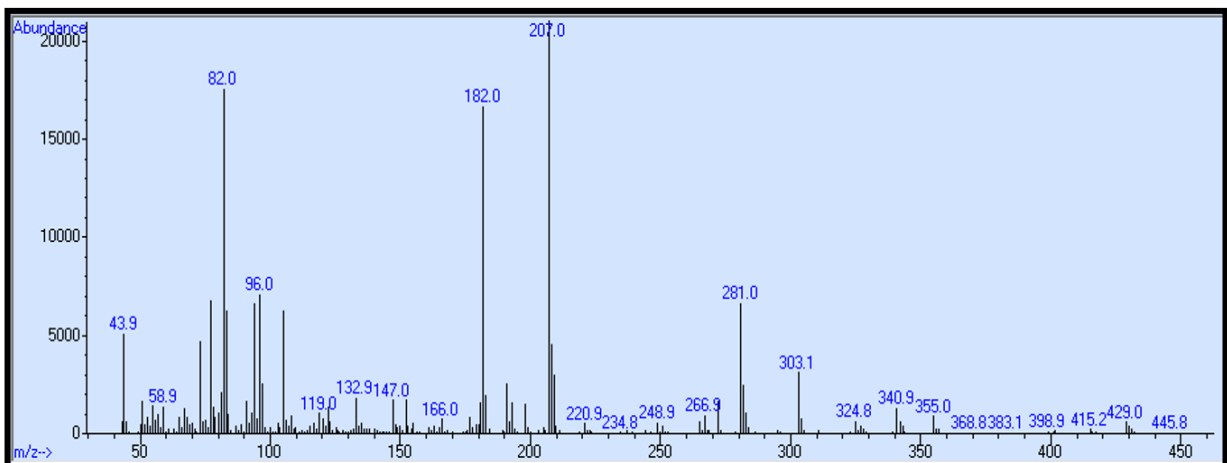
conforme Figuras 39, 40 e 41. Após análise do cromatograma observa-se um sinal no tempo de retenção de 3,88 min. confirmando a presença de cocaína pelas análises do fragmentograma. Foi possível evidenciar os fragmentos 82,0 m/z, 182,0 m/z e 303,1 m/z e que após pesquisa no banco de dados do equipamento (biblioteca NIST) evidenciou compatibilidade para cocaína.

Figura 39 - Cromatograma obtido por CG-MS nas condições descritas no item 4.2 do extrato de Metanol (3 mL) após extração realizada no MIP-10C utilizado na D-SPE para detecção de cocaína na amostra de esgoto.



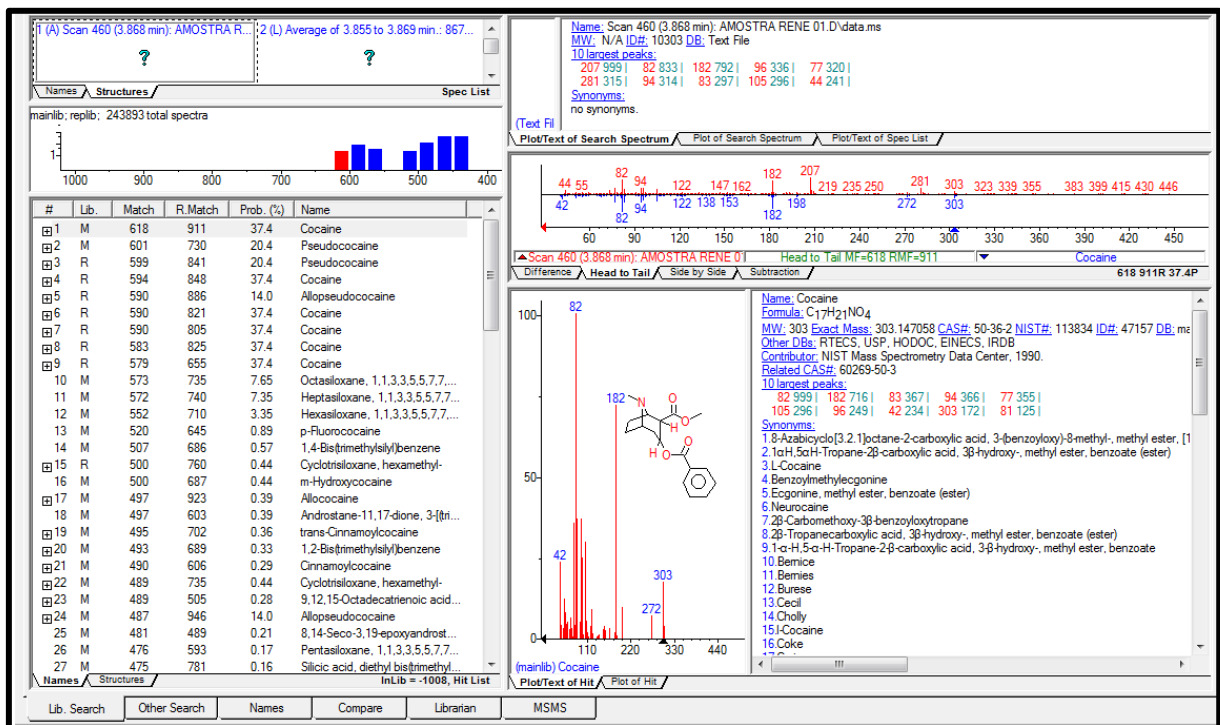
Fonte: Do autor.

Figura 40 - Fragmentograma da substância detectada no tempo de retenção para cocaína (3,88min.) evidenciando os fragmentos 82,0 m/z, 182,0 m/z e o íon molecular 303,1 m/z.



Fonte: Do autor.

Figura 41 - Resultado da pesquisa no banco de dados do equipamento (Biblioteca NIST) evidenciando compatibilidade para cocaína.



Fonte: Do autor.

A análise do esgoto apresentou uma concentração no extrato (Metanol) de 4,52 mg L⁻¹ e como a extração foi realizada em 3 mL pode-se concluir que havia 0,01356 mg de cocaína em um litro de esgoto o que equivale a 13,56 µg L⁻¹. Analisando a taxa de recuperação do método para o MIP-10C (90%) pode-se afirmar que a concentração de cocaína na amostra de esgoto analisada era de **15,07 µg L⁻¹**.

A concentração de cocaína na amostra de esgoto analisada encontrava-se abaixo dos limites de detecção e de quantificação (LOD e LOQ) do método do CG-MS, que foram definidos como 0,5 mg L⁻¹ e 1,71mg L⁻¹, respectivamente.

Com a utilização do MIP-10C pode-se determinar que o fator de pré-concentração foi de 300 vezes, o que resultou em uma concentração no extrato (4,52 mg L⁻¹) acima dos limites de detecção e de quantificação do método.

Em seguida foi coletado dados da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), onde a amostra foi colhida, e os dados de vazão média fornecidos é de 285 L por

segundo (160 L s^{-1} a 360 L s^{-1}). Considerando a vazão média tem-se uma quantidade de cocaína no esgoto em 24 horas na ordem de 371 mg de cocaína. Analisando a metabolização da cocaína no organismo humano, considerando que apenas 1 a 9% da cocaína consumida é eliminada na forma inalterada (BASELT, 2004; BUJAK *et al.*, 2016; COGNARD *et al.*, 2005; GOMES, 2010; PAVLOVA *et al.*, 2004) e ao utilizarmos a média entre os valores (5%), temos que o consumo médio de cocaína, população atendida pela ETE analisada, em 24 horas foi de 7,42 g. Considerando o grau de pureza de cocaína, segundo dados da UNODC (UNODC, 2020), em amostras de rua no Brasil que é de 15 a 36% e segundo dados mais precisos em amostras analisadas no estado de Minas Gerais, mais de 70% das amostras apresentaram pureza abaixo de 20% (MAGALHÃES *et al.*, 2013). Assim, com uma pureza de 20% temos que o consumo médio populacional em 24 horas de pó contendo cocaína foi de 37,1 g e o consumo mensal foi de **1,113 Kg** de pó contendo cocaína.

Cabe esclarecer que foi realizada apenas uma análise do esgoto urbano, o que permite apenas estimar o consumo populacional e para uma determinação estatisticamente confiável faz-se necessária novas amostragens de esgoto para que a análise tenha representatividade, porém, o objetivo do presente trabalho foi atingido e fornece um material e uma metodologia que permite a posterior análise estatística representativa do consumo populacional.

Como a metabolização da cocaína no organismo humano é uma variável, onde estudos mostram que de 1 a 9% (BASELT, 2004; BUJAK *et al.*, 2016; COGNARD *et al.*, 2005; GOMES, 2010; PAVLOVA *et al.*, 2004) é eliminada na urina de forma inalterada não é possível análises comparativas entre populações diferentes, porém, pode-se a partir desse dado cientificamente comprovado mensurar as oscilações dentro da mesma população atendida, taxas de crescimento no consumo, variações ao longo do tempo, comparar a quantidade de droga apreendida com a quantidade consumida pela população, entre outras inúmeras informações relevantes para atuação do Poder Público no combate a esse grave problema de saúde pública.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que houve síntese assistida por energia micro-ondas e os polímeros de impressão molecular foram eficientes para utilização em Extração em Fase Sólida Dispersiva.

A potência e o tempo de reação influenciam diretamente na síntese, no rendimento e nas características morfológicas dos polímeros formados nas condições testadas. Potência de 100W possibilitaram a síntese do polímero a partir de 15 min. Uma variável extremamente importante no processo de síntese dos MIP é o ponto de ebulição do solvente porogênico utilizado uma vez que a evaporação do solvente porogênico aparentemente influencia na área superficial do polímero, parâmetro importante para a eficiência do processo de SPE. Após o estudo o programa otimizado limitou a temperatura do meio reacional em 80 °C e para tal uma rampa de aquecimento de 400W por 2 min (Etapa 1 – Rampa), seguido de 30 min de síntese em potência constante de 80W (Etapa 2 – Permanência) uma vez o ganho de área superficial justificou a perda de 12% de rendimento em massa nessas condições.

Ao analisar os resultados das caracterizações dos MIP-1C e MIP-10C pode-se concluir que o processo de síntese assistida por energia micro-ondas foi eficiente para produção de MIPs capazes de serem utilizados em técnicas de Extração em Fase Sólida. A síntese foi eficiente pois houve a incorporação do ligante cruzado (EGDMA) à estrutura do polímero, houve a formação de sítios de ligação nos MIP-1C e MIP-10C obtidos com a adição da molécula-molde de cocaína e os polímeros mostraram estabilidade térmica até 120 °C. A variação dos parâmetros de síntese não influenciou na estrutura química dos MIPs sintetizados, mas foi um fator relevante para o rendimento e morfologia dos polímeros formados.

A variável de maior relevância para a obtenção de área superficial foi a redução da temperatura limite do meio reacional para 80 °C, abaixo da temperatura de ebulição do solvente porogênico utilizado. Esse limite de 80 °C para temperatura do meio reacional foi obtido com a redução da potência da etapa de rampa e de permanência o que gerou um polímero com área superficial 65% maior. Em relação ao diâmetro dos poros pode-se observar que os resultados foram inconclusivos, uma vez que houve grande variação e alguns resultados incompatíveis, o que necessita de maiores estudos.

Os ensaios de adsorção/dessorção de cocaína em amostras de água superficial colhida do desastre ambiental ocorrido na cidade de Mariana (MG) permitem concluir a capacidade máxima de remoção de cocaína dos MIP-1C e MIP-10C foi de 1,36% e 1,37% dos respectivos pesos.

Como objetivo final do presente trabalho foi realizada a quantificação de cocaína em amostra de esgoto urbano tratado da cidade de Poços de Caldas (MG). A amostra foi colhida na data de 31 de agosto de 2021 na maior estação de tratamento de esgoto (ETE) do município. Após adição de 270 mg do MIP-10C em amostra do esgoto tratado a adsorção da cocaína do meio por parte do polímero em uma técnica de Extração em Fase Sólida Dispersiva (D-SPE) e foi possível quantificar a cocaína nas amostras com excelente sensibilidade e seletividade. Analisando a taxa de recuperação do método para o MIP-10C (90%) pode-se afirmar que a concentração de cocaína na amostra de esgoto analisada era de **15,07 $\mu\text{g L}^{-1}$** e considerando a vazão média tem-se uma quantidade de cocaína no esgoto em 24 horas na ordem de 371 mg.

Considerando o grau de pureza de cocaína, segundo dados da UNODC (UNODC, 2020) (20%) temos que o consumo médio populacional em 24 horas de pó contendo cocaína era de 37,1 g e o consumo mensal na ordem de **1,113 Kg** de pó contendo cocaína.

A síntese dos polímeros assistida por energia micro-ondas apresentou diversas vantagens em relação às técnicas tradicionais, entre as principais o controle preciso do processo para geração de resultados desejados, menor tempo de síntese, utilização de menor quantidade de solventes, processo operacionalmente simples e ambientalmente amigável e os polímeros obtidos mostraram eficiência na taxa de recuperação superior com os obtidos pelas técnicas tradicionais.

Por fim conclui-se que o presente trabalho atingiu todos os objetivos propostos e a síntese dos MIPs, assistida por energia micro-ondas e utilização desses polímeros foi fundamental para quantificação da cocaína em baixas concentrações e presente em uma matriz complexa.

REFERÊNCIAS

ASHBY, J., HOUTHOFF, E., KENNEDY, S.J., STEVENS, J., BARS, R., JEKAT, F.W., CAMPBELL, P., VAN MILLER, J., CARPANINI, F.M., RANDALL, G.L.P. The challenge posed by endocrine-disrupting chemicals. **Environ Heal Perspect**, n. 105(2): p.164–169, 2011.

ASIMAKOPOULOS, A.G.; KANNAN, K., S-I, M.; MUROTA, C.; KONDO, K.; FUJIWARA, S.; TSUZUKI, M. Neuropsychiatric pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater treatment plants: a review. **Environ Chem**, v. 13: p. 541, 2016.

AUGUSTO, F.; HANTAO, L.W.; MOGOLLON, N.G.; BRAGA, S.C. New materials and trends in sorbents for solid-phase extraction. **Trends Anal. Chem.**, v. 43: p. 14-23, 2013.

AUSTRALIAN INSTITUTE OF HEALTH AND WELFARE (AIHW), National drug strategy household survey (NDSHS), **Drug Statistics Series**, Canberra, 2013.

BAKER, D. R.; BARRON, L.; KASPRZYK-HORDERN, B. Illicit and pharmaceutical drug consumption estimated via wastewater analysis. **Sci Total Environ**, v. 487: p. 629–641, 2014.

BAKER D. R., KASPRZYK-HORDERNA, B. Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, n. 1218: p. 1620 – 1631, 2011a.

BAKER, D. R.; KASPRZYK-HORDERN, B. Critical evaluation of methodology commonly used in sample collection, storage and preparation for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface water and wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, n. 1218: p. 8036 – 8059, 2011b.

BAILEY, B.J. Looking back at a century of cocaine – use and abuse. **Laryngoscope**, p. 681, 1996.

BARUAH, S.; DUTTA, J. Hydrothermal growth of ZnO nanostructures. **Science and Technology of Advanced Materials**, V. 10, n. 1, p. 013001, 2009.

BASELT, R.C. **Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man**. 7th ed. Biomedical Publications, Foster City, CA., 2004.

BIJLSMA, L.; SANCHO, J.V.; PITARCH, E.; IBÁÑEZ, M.; HERNÁNDEZ, F. Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry determination of amphetamine and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and a cannabis metabolite in surface water and urban wastewater. **Journal of Chromatography A**, n. 1216: p. 3078–3089, 2009.

BILECKA, I.; DJERDJ, I.; NIEDERBERGER, M. One-minute synthesis of crystalline binary and ternary metal oxide nanoparticles. **Chem. Commun.**, n. 7, p. 886–888, 2008.

BÖGI, C., SCHWAIGER, J., FERLING, H., MALLOW, U., STEINECK, C., SINOWATZ, F., KALBFUS, W., NEGELE, R.D., LUTZ, I., KLOAS, W. Endocrine effects of environmental pollution on *Xenopus laevis* and *Rana temporaria*. **Environ Res**, n. 93: p. 195–201, 2003.

BOLEDA, M.R.; GALCERAN, M.T.; VENTURA, F. Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. **Water Res.**, v. 4: p. 43, 2009.

BRUNI, A. T.; VELHO, J. A.; DE OLIVEIRA, M. F. **Fundamentos de Química Forense: Uma análise prática da química que soluciona crimes**. 2. ed. Millennium Editora. 2019.

BUJAK, R.; GADZALA-KOPCIUCH, R.; NOWACZYK, A.; RACZAK-GUTKNECHT, J.; KORDALEWSKA, M.; STRUCK-LEWICKA, W.; MARKUSZEWSKI, M. Selective determination of cocaine and its metabolite benzoylecgonine in environmental samples by newly developed sorbent materials. **Talanta**, v. 146: p. 401-409, 2016.

BUSZEWSKI, B., SZULTKA, M., GADZALA-KOPCIUCH, R. Sorbent chemistry, Evolution, Comprehensive sampling and sample preparation. **Analytical Techniques for Scientists**, V. 2: p.243-256, 2014.

CAMPESTRINI, I. Determinação de cocaína e metabólitos em amostras de urina de usuários da droga e em amostras ambientais, **Unicamp**, Campinas (SP), 2015.

CASTIGLIONI, S. Assessing illicit drugs in wastewater: advances in wastewater-based drug epidemiology. **Publications Office**, 2016.

CASTIGLIONI, S., BAGNATI, R., MELIS, M., PANAWENNAGE, D., CHIARELLI, P., FANELLI, R., ZUCCATO, E. Identification of cocaine and its metabolites in urban wastewater and comparison with the human excretion profile in urine. **Water Research**, v. 45: p. 5141 -5150, 2011.

CASTIGLIONI, S., BIJLSMA, L., COVACI, A., EMKE, E., HERNÁNDEZ, F., REID, M., ORT, C., THOMAS, K. V., VAN NUIJS, A., DE VOOGT, P., ZUCCATO, E. Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. **Environmental Science & Technology**, v. 47: p. 1452 – 1460, 2013.

CASTIGLIONI, S., GRIFFITHS, P., KASPRZYK-HORDERN, B., ME, A., THOMAS, K. V. Special Issue Testing the waters: A selection of papers from the first international multidisciplinary conference on detecting illicit drugs in wastewater. **Science of the Total Environment**, n. 487: p. 611 – 612, 2014.

CASTIGLIONI, S.; ZUCCATO, E.; CHIABRANDO, C.; FANELLI, R.; BAGNATI, R. Mass spectrometric analysis of illicit drugs in wastewater and surface water. **Mass Spectrom Rev**, n. 27: p. 378–394, 2008.

CECINATO, A., BALDUCCI, C., NERVEGNA, G. Occurrence of cocaine in the air of the worlds cities. **Science of the Total Environment**, n. 407: p. 1683 – 1690, 2009.

COGNARD, E.; RUDAZ, S.; BOUCHONNET, S.; STAUB, C. Analysis of cocaine and three of its metabolites in hair by gas chromatography-mass spectrometry using ion-trap detection for CI/MS/MS. **J Chromatogr. B**, v. 826: p.17–25, 2005.

DAGLIOGLU, N., GUZEL, E.Y., KILERCIOGLU, S. Assessment of illicit drugs in wastewater and estimation of drugs of abuse in Adana Province, Turkey. **Forensic Sci Int**, n. 294: p. 132–139, 2019.

DAUGHTON, C.G. Illicit drugs in municipal sewage: proposed new non-intrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit/abused drugs and their potential for ecological consequences. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: scientific and regulatory issues, in: C.G. Daughton, T.R. Jones-Lepp (Eds.), **ACS Symposium Series 791**, Washington, DC, p.348-364, 2001.

DOMÈNECH, X., PERAL, J., MUÑOZ, I. Predicted environmental concentrations of cocaine and benzoylecgonine in a model environmental system. **Water Research**, n. 43: p. 5236 – 5242, 2009.

EL ANSARI W.; VALLENTIN-HOLBECH L.; STOCK C. Predictors of illicit drug/s use among university students in Northern Ireland, Wales and England. **Glob J Health Sci**, v. 4: p. 18–29, 2015.

EINSTEIN, A. **Sobre Religião Cósmica e Outras Opiniões e Aforismos**, 1931.

FARR S.L.; HUTCHINGS Y.L.; ONDERSMA S.J.; CREANGA A.A. Brief interventions for illicit drug use among peripartum women. **Am J Obstet Gynecol**, v. 4: p. 336–343, 2014.

FEITOSA, R., SODRÉ, F. F., MALDANER, A. O. Drogas de abuso em águas naturais e residuárias urbanas: ocorrência, determinação e aplicações forenses. **Química Nova** n. 36: p. 291 – 305, 2016.

FOPPE, K.S., HAMMOND-WEINBERGER, D.R., SUBEDI, B. Estimation of the consumption of illicit drugs during special events in two communities in Western Kentucky, USA using sewage epidemiology. **Sci Total Environ**, n. 633: p. 249–256, 2018.

GABRIEL, C. et al. Dielectric parameters relevant to microwave dielectric heating. **Chemical Society Reviews**, v. 27, n. 3: p. 213, 1998.

GADZALA-KOPCIUCH, R.; RICANYOVÁ, J.; BUSZEWSKI, B. Isolation and detection of steroids from human urine by molecular imprinted solid-phase extraction and liquid chromatography. **J. Chromatogr. B**, v. 877: p. 1177-1184, 2009.

GILLESBY, B.E., ZACHAREWSKI, T.R. Exoestrogens: mechanisms of action and strategies for identification and assessment. **Environ Toxicol Chem**, v. 17: p. 3–14, 1998.

GOMES, M. J. de F. Desenvolvimento de métodos espectro-analíticos aplicados à química forense e alimentos – Tese de Doutorado Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. **Química Fundamental**, 2010.

GRACIA-LOR, E., CASTIGLIONI, S., BADE, R., BEEN, F., CASTRIGNANÒ, E., COVACI, A., GONZÁLEZ-MARIÑO, I., HAPESHI, E., KASPRZYK-HORDERN, B., KINYUA, J., LAI, F.Y., LETZEL, T., LOPARDO, L., MEYER, M.R., O'BRIEN, J., RAMIN, P., ROUSIS, N.I., RYDEVIK, A., RYU, Y., SANTOS, M.M., SENTA, I., THOMAIDIS, N.S., VELOUTSOU, S., YANG, Z., ZUCCATO, E., BIJLSMA, L. Measuring biomarkers in wastewater as a new source of epidemiological information: current state and future perspectives. **Environ Int**, n. 99: p. 131–150, 2016.

HASHEMI, B.; ZOHRABI, P.; SHAMSIPUR, M. Recent developments and applications of different sorbents for SPE and SPME from biological samples. **Talanta** n. 187: p. 337-347, 2013.

HELFMAN, G.S. Fish conservation: a guide to understanding and restoring global aquatic biodiversity and fishery resources. **Island Press**, Washington, 2007.

HUERTA-FONTELA, M.; GALCERAN, M.T.; MARTIN-ALONSO, J.; VENTURA, F. Occurrence of Psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. **Sci. Total Environ.**, n. 397: p. 31-40, 2008.

JONES H.E.; HICKMAN M.; KASPRZYK-HORDERN B.; WELTON N.J.; BAKER D.R.; ADES A.E. Illicit and pharmaceutical drug consumption estimated via wastewater analysis. Part B: placing backcalculations in a formal statistical framework. **Sci Total Environ**, n. 487: p. 642–650, 2014.

JONES-LEPP, T. L., STEVENS, R. Pharmaceuticals and personal care products in biosolids/ sewage sludge: the interface between analytical chemistry and regulation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, n. 387: p. 1173 – 1183, 2007.

KALETA, A., FERDIG, M., BUCHBERGER, W. Semiquantitative determination of residues of amphetamine in sewage sludge sample. **Journal of Separation Science**, n. 29: p. 1662 – 1666, 2006.

KAPPE, C. O. Controlled Microwave Heating in Modern Organic Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 43, n. 46: p. 6250–6284, 2004.

KESHAVIAH, A.; GITLIN, R.; CATTELL, L.; REEVES, W.; De VALLANCE, J.; THORNTON, C. The potential of wastewater testing for rapid assessment of opioid abuse (research brief). **Mathematica Policy Research**, 2016.

KRIZMAN-MATASIC, I.; SENTA, I.; KOSTANJEVECKI, P.; AHEL, M.; TERZIC, S. Long-term monitoring of drug consumption patterns in a large-sized European city

using wastewater-based epidemiology: comparison of two sampling schemes for the assessment of multiannual trends. **Sci Total Environ**, n. 647: p. 474–485, 2019.

KUMAR, A. et al. Microwave chemistry, recent advancements, and eco-friendly microwave-assisted synthesis of nanoarchitectures and their applications: a review. **Materials Today Nano**, v. 11: p. 100076, 2020.

KUMAR, R., TSCHARKE, B., O'BRIEN, J., MUELLER, J.F., WILKINS, C., PADHYE, L.P. Assessment of drugs of abuse in a wastewater treatment plant with parallel secondary wastewater treatment train. **Sci Total Environ**, n. 658: p. 947–957, 2019.

LAI, F.Y.; O'BRIEN, J.; BRUNO, R.; HALL, W.; PRICHARD, J.; KIRKBRIDE, P.; GARTNER, C.; THAI, P.; CARTER, S.; LLOYD, B. Spatial variations in the consumption of illicit stimulant drugs across Australia: a nationwide application of wastewater-based epidemiology. **Sci Total Environ**, n. 568: p. 810–818, 2016.

LI, K., DU, P., XU, Z., GAO, T., LI, X. Occurrence of illicit drugs in surface waters in China. **Environ Pollut**, n. 213: p. 395–402, 2016.

MAGALHÃES, E.J., NASCENTES, C.C., PEREIRA, L.S.A., GUEDES, M.L.O., LORDEIRO, R.A., AULER, L.M.L.A., AUGUSTI, R., QUEIROZ, M.E.L.R. Evaluation of the composition of street cocaine seized in two regions of Brazil. **Science and Justice**, n. 53: p. 425–432, 2013.

MATHIEU, C., JÖRG, R., BERSET, J-D., SCHÜRCH, S., BRENNEISEN, R. Assessment of total uncertainty in cocaine and benzoylecgonine wastewater load measurements. **Water Research**, n. 45: p. 6650 – 6660, 2011.

MCCALL A.K.; BADE R.; KINYUA J.; LAI F.Y.; THAI P.K.; COVACI A.; BIJLSMA L.; VAN NUIJS A.L.; Ort C. Critical review on the stability of illicit drugs in sewers and wastewater samples. **Water Res**, n. 88: p. 933–947, 2016.

MCCALL, A-K., BADE, R., KINYUA, J., LAI, F.Y., THAI, P.K., COVACI, A., BIJLSMA, L., VAN NUIJS, A.L., ORT, C. Critical review on the stability of illicit drugs in sewers and wastewater samples. **Water Res**, n. 88: p. 933–947, 2016a.

METCALFE, C., TINDALE, K., LI, H., RODAYAN, A., YARGEAU, V. Illicit drugs in Canadian municipal wastewater and estimates of community drug use. **Environmental Pollution**, n. 158: p. 3179 – 3185, 2010.

MURRAY, A., ÖRMECI, B. Application of molecularly imprinted and non-imprinted polymers for removal of emerging contaminants in water and wastewater treatment: A review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 9: p. 3820–3830, 2012.

NEFAU, T.; KAROLAK, S.; CASTILLO, L.; BOIREAU, V.; LEVI, Y. Presence of illicit drugs and metabolites in influents and effluents of 25 sewage water treatment plants and map of drug consumption in France. **Sci Total Environ**, n. 461: p. 712–722, 2013.

OBSERVATÓRIO EUROPEU DA DROGA E TOXICODEPENDÊNCIA. **Relatório Europeu sobre Drogas: Tendência e Evoluções**, 2019.

PAL, R.; MEGHARAJ, M.; KIRKBRIDE, K.P.; NAIDU, R. Illicit drugs and the environment: a review. **Sci Total Environ**, n. 463: p.1079–1092, 2013.

PASSAGLI, M. **Toxicologia Forense: teoria e prática**. Millennium Editora. 2007.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. Tradução da 4ª Edição Norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PAVLOVA, V.; MIRČESKI, V.; KOMORSKY-LOVRI, Š.; PETROVSKA-JOVANOVIĆ, S.; MITREVSKI, B. Studying electrode mechanism and analytical determination of cocaine and its metabolites at the mercury electrode using square-wave voltammetry, **Anal. Chim. Acta** v. 512: p.49–56, 2004.

POSTIGO, C.; LÓPEZ DE ALDA, M.J.; BARCELÓ, D. Drugs of Abuse and their metabolites in the Ebro River basin: occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. **Environ. Int.**, n. 36: p. 75-84, 2010.

PYRZYNSKA, K. Use of nanomaterials in sample preparation, **Trends Anal. Chem.**, n. 43: p. 100-108, 2013.

RANA, K. K.; RANA, S. Microwave Reactors: A Brief Review on Its Fundamental Aspects and Applications. **OALib**, V 01, n. 06: p. 1–20, 2014.

SANTOS, M.G et al. Emprego de polímeros de impressão molecular em preparo de amostras para análise de compostos orgânicos: aplicações e tendências. **Scientia Chromatographica**, V. 4: p. 161-183, 2012.

SECRETARIA NACIONAL DE POLÍTICAS SOBRE DROGAS. **Relatório Brasileiro sobre Drogas**, 2009.

SEGNER, H., CAROLL, K., FENSKE, M., JANSSEN, C.R., MAACK, G., PASCOE, D., SCHÄFERS, C., VANDENBERGH, G.F., WATTS, M., WENZEL, A. Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates: **European IDEA project**, n. 54: p. 302–314, 2003.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7ª.ed. Rio de Janeiro : LTC Editora, 2006. Tradução de: Ricardo Bicca de Alencastro.

SKEES A.J.; FOPPE K.S.; LOGANATHAN B.; SUBEDI B. Contamination profiles, mass loadings, and sewage epidemiology of neuropsychiatric and illicit drugs in wastewater and river waters from a community in the Midwestern United States. **Sci Total Environ**, n. 631-632: p. 1457–1464, 2018.

SNYDER, S. A., VILLENEUVE, D. L., SNYDER, E. M., GIESY, J. P. Identification and quantification of estrogen receptor agonists in wastewater effluents. **Environmental Science & Technology** n. 35 (2001): p. 3620 – 3625, 2016.

TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; KUBOTA, L. T. Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 1: preparo e aplicações de MIP (“molecularly imprinted polymers”) em técnicas de extração e separação. **Química Nova**, v. 28, n. 6: p. 1076-1086, 2005.

TERZIC, S.; SENTA, I.; AHEL, M. Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia)—estimation of drug abuse in a transition country. **Environ Pollut**, n. 158: p. 2686–2693, 2010b.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME (UNODC). **World Drug Report 2020**: Booklet 4: Stimulants, 2020.

VAN NUIJS, A. L. N., ABDELLATI, K., BERVOETS, L., BLUST, R., JORENS, P. G., NEELS, H., COVACI, A. The stability of illicit drugs and metabolites in wastewater, an important issue for sewage epidemiology. **Journal of Hazardous Materials**, n. 239: p. 19 – 23, 2012.

VAN NUIJS, A.L.N.; CASTIGLIONI, S.; TARCOMNICU, I.; POSTIGO, C.; LOPEZ DE ALDA, M.; NEELS, H.; ZUCCATO, E.; BARCELO, D.; COVACI, A. Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis, **Sci. Total Environ.**, n. 19 – 409: p. 3564-3577, 2011.

VASAPOLLI, G.; SOLE, R.D.; MERGOLA, L.; LAZZOI, M.R.; SCARDINO, A.; SCORRANO, S.; MELE, G. Molecularly imprinted polymers: present and future prospective. **Int. J. Mol. Sci.**, n. 12: p. 5908-5945, 2011.

WEISS, R. D.; MIRIN, S. M.; BARTEL, R. L. **Cocaine**. 2.ed., Washington-DC: American Psychiatric Press, 1994.

WOJNAROWICZ, J.; CHUDOBA, T.; LOJKOWSKI, W. A Review of Microwave Synthesis of Zinc Oxide Nanomaterials: **Reactants, Process Parameters and Morphologies**. **Nanomaterials**, v. 10, n. 6: p. 1086, 2020.

YADAV, M.K.; SHORT, M.D.; ARYAL, R.; GERBER, C.; VAN DEN AKKER, B.; SAINT, C.P. Occurrence of illicit drugs in water and wastewater and their removal during wastewater treatment. **Water Res**, n. 124: p. 713–727, 2017.

YANG, M., PARK, M.S., LEE, H.S. Endocrine disrupting chemicals: human exposure and health risks. **J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol**, Rev n. 24: p. 183–224, 2006.

ZAIDI, S.A. Molecular imprinting polymers and their composites: a promising material for diverse applications. **Biomater. Sci.**, n. 5: p. 388, 2017.

ZUCCATO, E.; CASTIGLIONI, S.; BAGNATI, R.; CHIABRANDO, C.; GRASSI, P.; FANELLI, R. Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. **Water Res.**, n. 42: p. 961-968, 2008.

ZUCCATO, E.; CHIABRANDO, C.; CASTIGLIONI, S.; CALAMARI, D.; BAGNATI, R.; SCHIAREA, S.; FANELLI, R. Cocaine in surface Waters: a new evidence-based tool to monitor Community drug abuse. **Environ. Health**, n. 4 (14): p. 1-7, 2005.