



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SUESLLEY GURGEL GUIMARÃES RODRIGUES

**MATERIAL HÍBRIDO PARA DETECÇÃO DE AMINAS AROMÁTICAS
HETEROCÍCLICAS**

FORTALEZA

2021

SUESLLEY GURGEL GUIMARÃES RODRIGUES

MATERIAL HÍBRIDO PARA DETECÇÃO DE AMINAS AROMÁTICAS
HETEROCÍCLICAS

Dissertação submetida à comissão do Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientadora: Prof^a. Dra. Izaura Cirino Nogueira Diógenes;

Coorientadora: Prof^a. Dra. Elisane Longhinotti.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R616m Rodrigues, Suesley Gurgel Guimarães.

Material híbrido para detecção de aminas aromáticas heterocíclicas / Suesley Gurgel Guimarães Rodrigues. – 2021.

73 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Izaura Cirino Nogueira Diógenes.

Coorientação: Prof. Dr. Elisane Longhinotti.

1. Materiais híbridos. 2. Quinoxalina. 3. Aminas aromáticas heterocíclicas. 4. Filmes de quitosana. 5. Pentaciano(amino)ferrato. I. Título.

CDD 540

SUESLLEY GURGEL GUIMARÃES RODRIGUES

MATERIAL HÍBRIDO PARA DETECÇÃO DE AMINAS AROMÁTICAS
HETEROCÍCLICAS

Dissertação submetida à comissão do Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovado em: 31/05/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Izauro Cirino Nogueira de Diógenes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Elisane Longhinotti (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Gisele Simone Lopes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

RESUMO

Materiais híbridos constituídos de substâncias orgânicas e inorgânicas têm despertado o interesse da comunidade acadêmica na proposição de sensores analíticos por apresentarem propriedades que ampliam suas possibilidades de aplicação. Mais recentemente, tais materiais contendo biopolímeros, como quitosana, têm se alinhado à demanda global por produtos biodegradáveis e de menor custo. A motivação do presente estudo deve-se à possibilidade da utilização de materiais híbridos na detecção de amins aromáticas heterocíclicas (AAHs) produzidas durante o processamento de carnes de origem animal, devido à associação com a indução de alguns tipos de câncer. Este trabalho trata da produção de um material híbrido constituído de um filme de quitosana (porção orgânica) e do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ (porção inorgânica). A imobilização do íon complexo sobre o filme foi realizada através de processos de adsorção, sendo comprovada por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis através da observação de bandas associadas às transições de transferência de carga (~230 nm) e de campo ligante (438 nm) e quantificada ($57,43 \pm 0,86 \mu\text{mol g}^{-1}$) a 25 °C por espectroscopia de absorção atômica. A utilização dessas matrizes híbridas na detecção de AAHs se baseia na reação de substituição do ligante NH_3 do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ por quinoxalina (IQx), a molécula de prova utilizada para mimetizar as interações em amostras reais. A imersão da matriz híbrida, tanto em soluções aquosas contendo IQx quanto em amostras de hambúrguer dopadas com IQx, apresentou mudança da coloração de amarelo para roxo como resultado da absorção em 536 e 555 nm, respectivamente, indicando a viabilidade da utilização como sensor colorimétrico. Estudos mostraram que o aminoácido histidina presente nas carnes pode ser um interferente na detecção de AAHs, contudo, esse não se apresenta de forma livre em solução, tornando o risco diminuto.

Palavras-chave: materiais híbridos; quinoxalina; amins heterocíclicas aromáticas; filmes de quitosana; pentaciano(amino)ferrato.

ABSTRACT

Hybrid materials constituted of organic and inorganic substances have aroused the interest of the academic community in the proposition of analytical sensors for presenting properties that expand their application possibilities. More recently, materials containing biopolymers, such as chitosan, have been aligned with the global demand for biodegradable and less expensive products. The motivation of the present study is due to the possibility of using hybrid materials in the detection of heterocyclic aromatic amines (HAAs) produced during the processing of meat of animal origin, due to the association with the induction of some types of cancer. This work deals with the production of a hybrid material consisting of a chitosan film (organic portion) and the ion complex $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ (inorganic portion). The immobilization of the ion complex on the film was carried out through adsorption processes, being confirmed by electronic absorption spectroscopy in the UV-Vis regions through the observation of bands associated with charge transfer (~ 230 nm) and ligand field transitions (438 nm) and quantified ($57.43 \pm 0.86 \mu\text{mol g}^{-1}$) at 25 °C by atomic absorption spectroscopy. The use of these hybrid matrices in the detection of HAAs is based on the reaction of replacing the NH_3 ligand of the ion complex $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ by quinoxaline (IQx), the probe molecule used to mimic the interactions and interactions in real samples. The immersion of the hybrid matrix, both in aqueous solutions containing IQx and in hamburger samples doped with IQx, showed a color change from yellow to purple because of the absorption at 536 and 555 nm, respectively, indicating the feasibility of using it as a colorimetric sensor. Studies have shown that the histidine amino acid present in meat can be an interferer in the detection of HAAs, however, this does not present itself in a free form in solution, making this risk diminished.

Keywords: hybrid materials; quinoxaline; heterocyclic aromatic amines; chitosan films; pentacyano(amin)ferrate.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	7
2	JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	20
2.1	Justificativa.....	20
2.2	Objetivos Gerais.....	21
2.3	Objetivos Específicos.....	21
3	METODOLOGIA.....	22
3.1	Reagentes.....	22
3.2	Síntese e caracterização das matrizes híbridas.....	22
3.2.1	<i>Preparação dos filmes de quitosana.....</i>	22
3.2.2	<i>Síntese dos íons complexos $Fe(CN)_5(NH_3)]^{3-}$ e $Fe(CN)_5(IQx)]^{3-}$.....</i>	23
3.2.3	<i>Modificação dos filmes de quitosana com o íon complexo $[Fe(CN)_5(OH_2)]^{3-}$.....</i>	26
3.2.4	<i>Quantificação de íon complexo adsorvido à matriz híbrida.....</i>	27
3.3	Produção dos strips de papel.....	28
3.4	Estudos de adsorção e dessorção.....	29
3.5	Aplicação das matrizes híbridas.....	29
3.5.1	<i>Aplicação das matrizes híbridas em soluções de quinoxalina.....</i>	29
3.5.2	<i>Aplicação das matrizes híbridas em amostras reais dopadas com quinoxalina.....</i>	30
3.5.3	<i>Estudo de interferentes.....</i>	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1	Síntese das matrizes híbridas.....	33
4.1.1	<i>Síntese do filme de quitosana.....</i>	33
4.1.2	<i>Síntese e caracterização dos íons complexos $[Fe(CN)_5(NH_3)]^{3-}$ e $[Fe(CN)_5(IQx)]^{3-}$.....</i>	34
4.1.3	<i>Adsorção do íon complexo $[Fe(CN)_5(OH_2)]^{3-}$ no filme de quitosana.....</i>	36
4.1.4	<i>Dessorção do íon complexo $[Fe(CN)_5(OH_2)]^{3-}$ do filme de quitosana.....</i>	40
4.1.5	<i>Caracterização da matriz híbrida.....</i>	41
4.2	Aplicação das matrizes híbridas na detecção de AAHs.....	48

4.2.1	<i>Aplicação das matrizes híbridas em soluções de quinoxalina.....</i>	48
4.2.2	<i>Aplicação das matrizes híbridas em amostras de carne dopadas com quinoxalina.....</i>	50
4.2.3	<i>Estudo de interferentes.....</i>	52
4.2.4	<i>Produção dos strips de papel.....</i>	60
5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	62
	REFERÊNCIAS.....	63

INTRODUÇÃO

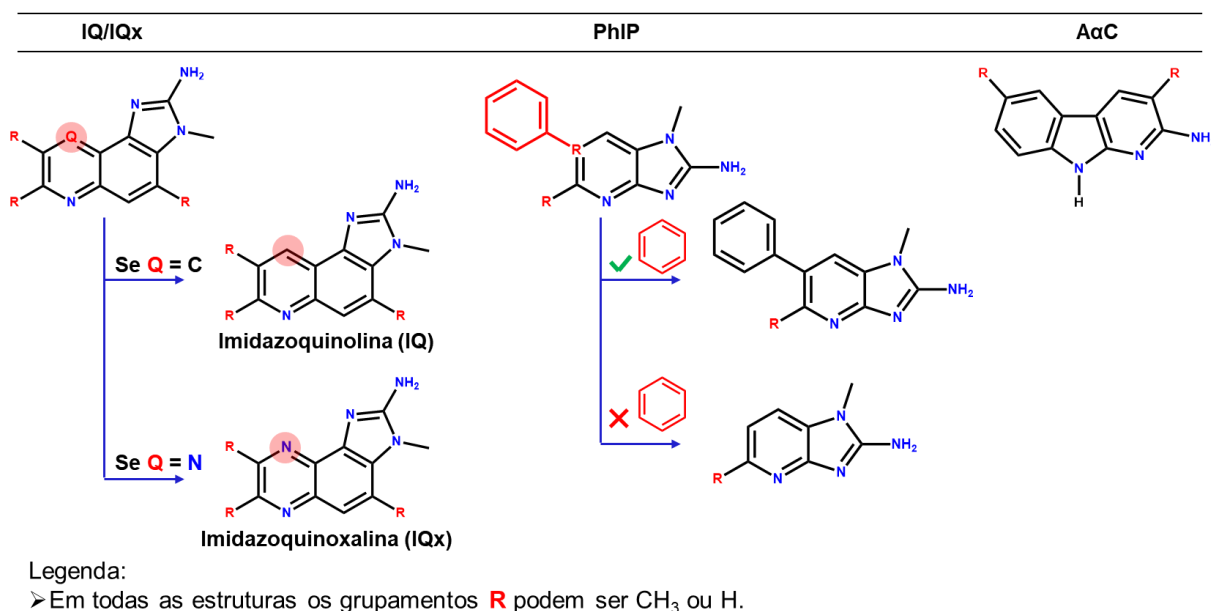
Uma das maiores necessidades humanas é a alimentação, pois é de onde retiramos a energia e os componentes necessários ao funcionamento do nosso corpo, como carboidratos, proteínas e gorduras, dentre outros. Sabe-se que as fontes desses alimentos ou os processos aos quais esses são submetidos, porém, podem estar relacionados com a indução ou não do desenvolvimento de câncer [1].

O trabalho de Widmark foi o primeiro a reportar experimentos em que ratos expostos a extratos de carne de cavalo assada a 275 °C apresentaram a formação de tumores nas glândulas mamárias, evidenciando a possibilidade de indução de câncer [2].

Outros pesquisadores passaram a demonstrar interesse no estudo de substâncias com atividade cancerígena em alimentos processados constatando-se, então, a presença frequente de aminas aromáticas heterocíclicas (AAHs). Essas moléculas são formadas a partir de compostos que passam por processos de aquecimento em temperaturas elevadas (acima de 100 °C) e que contêm nitrogênio em suas estruturas. Os alimentos de origem animal, portanto, constituem-se em potenciais fontes de AAHs, visto que são ricos em proteínas e creatina [3].

Muitos estudos mostram que células humanas podem metabolizar tais aminas heterocíclicas, causando danos ao material genético, visto que os metabólitos produzidos podem formar adutos com o DNA [4–9]. As aminas heterocíclicas produzidas são classificadas de acordo com a faixa de temperatura de processamento [10], a saber: (I) AAHs térmicas ou tipo IQ, formadas na faixa de aquecimento de 100 a 300 °C e (II) AAHs pirolíticas ou tipo não IQ, produzidas acima de 300 °C. Mais de vinte e cinco tipos de AAHs já foram isoladas desde 1977 [11], apresentando semelhanças em suas estruturas. A Figura 1 apresenta as três estruturas básicas de AAHs encontradas em alimentos processados.

Figura 1 – Ilustração das três estruturas básicas de AAHs comumente encontradas em alimentos processados. IQ = imidazoquinolina, IQx = imidazoquinoxalina, PhIP = fenilimidazopiridina; AαC = alfa carbolinas, referente às estruturas noharman e harman.



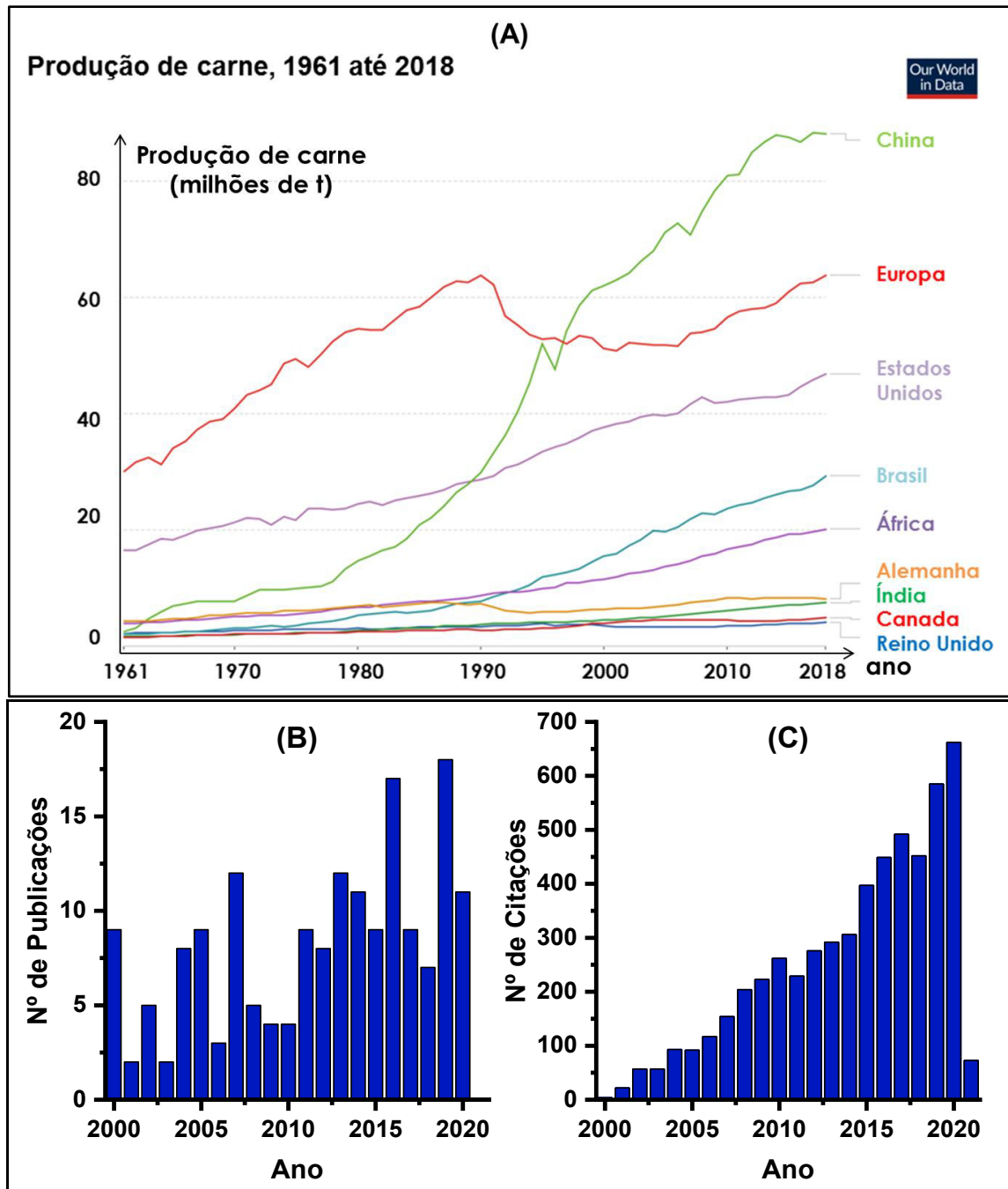
Fonte: Próprio autor.

O primeiro tipo apresentado, IQ/IQx, pode originar duas estruturas. Caso o grupamento Q, destacado em vermelho, seja um carbono, então a estrutura é denominada imidazoquinolina (IQ) devido a ligação do anel imidazólico a uma quinolina. Se Q for nitrogênio, tem-se uma imidazoquinoxalina (IQx) em consequência da ligação do anel imidazólico a uma quinoxalina.

No segundo caso, PhIP, os substituintes são a principal diferença entre as moléculas, sendo possível a presença ou não do anel aromático destacado em vermelho. Por fim, o terceiro tipo, AαC, também chamado de norharman, recebe essa denominação devido às substituições nas posições dos anéis destacadas em R. Existem compostos com substituintes nas posições β, porém esses são encontrados em quantidades abaixo de 2 ng g⁻¹, não tendo representatividade [12].

A Figura 2 mostra que a produção de carne vem aumentando ao longo dos anos (Figura 2(A)) apesar do número crescente de estudos associando a presença de AAHs em alimentos processados (Figuras 2(B) e 2(C)) de origem animal aos diferentes tipos de câncer.

Figura 2 – (A) gráfico do crescimento de produção de carne do ano de 1961 até 2018 em diferentes países, incluindo carne de gado, aves, ovelha/carneiro, cabra, carne de porco e de animais selvagens, utilizando as palavras-chave *HAA*s e *cancer* (B) Número de publicações vs ano e (C) Número de citações vs ano.

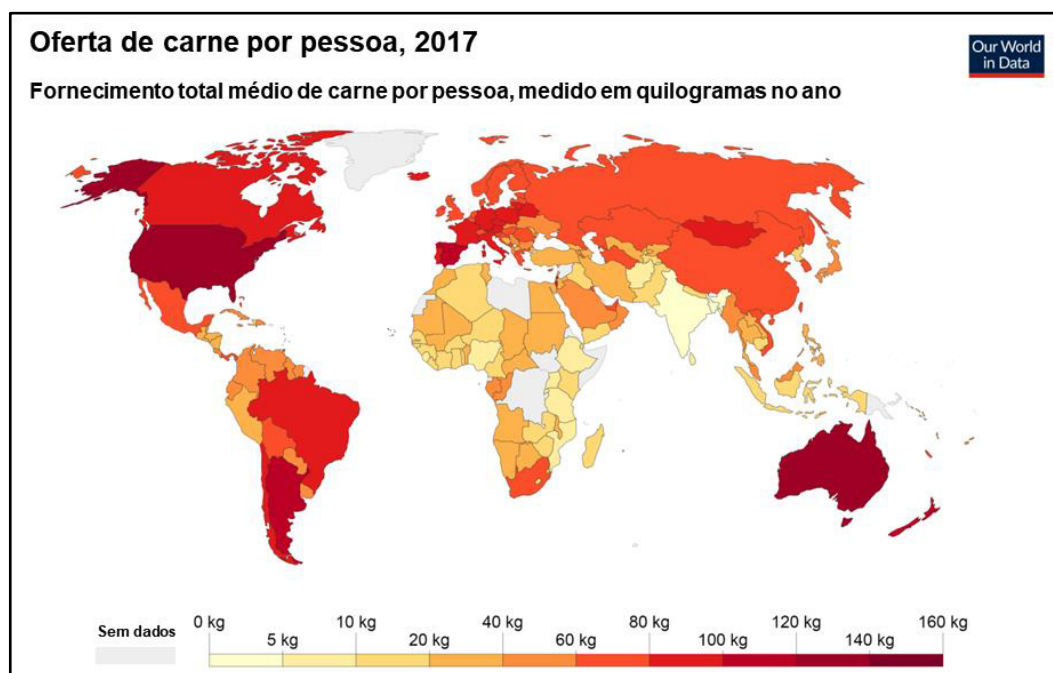


Fonte: Our World in Data [13]; Web of Science [14].

Pode-se observar na Figura 2(A) que a produção de carne vem aumentando no decorrer dos anos em diferentes países, estando a china em

primeiro lugar devido à sua população de, aproximadamente, 1,43 bilhões de habitantes [15] para o ano de 2018. O Brasil se encontra em quarto lugar na pesquisa realizada, contando com uma população de, aproximadamente, 209,47 milhões de habitantes também para o mesmo ano [16]. A Figura 2(B) mostra a quantidade de publicações feitas no decorrer dos anos, apresentando tendência relativamente crescente, e a Figura 2(C) o crescente número de citações relacionando a presença de AAHs e o desenvolvimento de câncer, evidenciando a crescente preocupação da comunidade científica em realizar estudos cada vez mais profundos sobre o assunto. A Figura 3 mostra a média da quantidade de carne fornecida por pessoa no ano de 2017.

Figura 3 - Infográfico que mostra a média da oferta de carne por pessoa no ano de 2017.



Fonte: Our World in Data [13].

É possível observar que diversos locais têm grande concentração de fornecimento de carne, chegando até 160 kg/pessoa durante o ano, tratando-se de um consumo excessivo prejudicial à saúde, haja vista os estudos que mostram os malefícios relacionados com os compostos produzidos na carne assada.

O aumento no consumo de carne associado aos fortes indicativos de atividade cancerígena das substâncias AAHs fez surgir a necessidade de métodos analíticos capazes de detectar e quantificar tais substâncias [17,18]. Atualmente, os

principais métodos utilizados baseiam-se nas técnicas de cromatografia acopladas a diversos sistemas de detecção [19,20]. De modo geral, o mais empregado é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada à detecção por espectroscopia ultravioleta (UV) e fluorescência ou UV e espectrometria de massa [21]. Em alguns casos, é necessário utilizar a cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE), visto que essa técnica apresenta maior sensibilidade, sendo importante para amostras com concentrações na faixa de 1 a 70 ng g⁻¹ de analito [12].

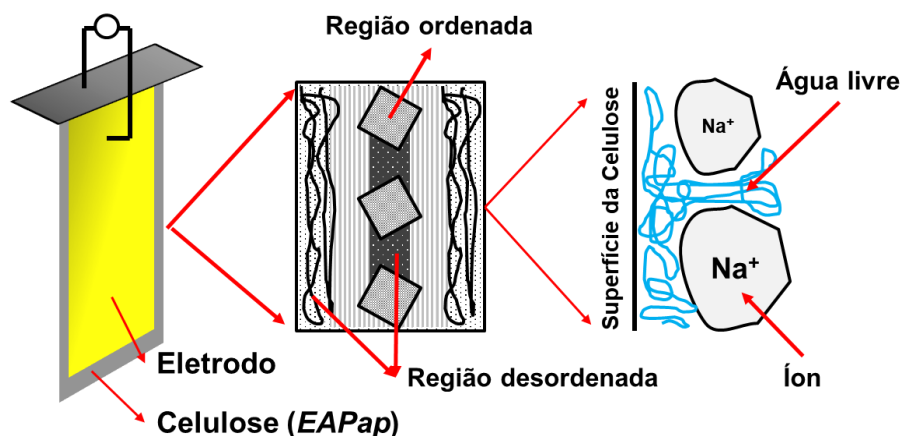
As técnicas cromatográficas, apesar de muito utilizadas, exigem equipamentos sofisticados que, em geral, apresentam alto custo de obtenção e de manutenção, bem como profissionais capacitados para o manuseio dos mesmos. Assim, muitos locais menos desenvolvidos e de menor poder aquisitivo não possuem, em geral, acesso a essas técnicas, fazendo-se necessária a busca por meios alternativos de análise. Nesse sentido, Whitesides introduziu, em 2007, os dispositivos analíticos microfluídicos baseados em papel – do inglês *microfluidic paper-based analytical devices* (μ PADs) - destinados a auxiliar em diagnósticos e análises mais rápidas e menos onerosas [22].

Outros estudos propõem a combinação de compostos orgânicos e inorgânicos na produção de materiais híbridos. Esses materiais têm potencial para atender à demanda da produção desses dispositivos, visto que passam a apresentar características dos dois domínios existentes em uma única matriz [23–26], tendo diversas aplicações e baixo custo de produção.

Materiais híbridos compostos por substâncias orgânicas e inorgânicas passaram a ser usados nesses tipos de artefatos, uma vez que apresentam propriedades comercialmente interessantes, tais como economia de energia, tamanho compacto e portabilidade [27–30]. A busca por materiais não prejudiciais ao meio ambiente, também, levou à proposição de sistemas híbridos contendo substâncias biodegradáveis em sua composição. Nesse contexto, os biopolímeros tornaram-se bastante atrativos por serem biocompatíveis e biodegradáveis [31–33]. A celulose, por exemplo, por ser o polímero natural mais abundante e possuir propriedades eletroativas, é um exemplo de matriz utilizada. Um exemplo de suas aplicações são os denominados *electro active papers* (*EAPap*) descobertos por Kim *et al.* [34] em 2006. Algumas das vantagens mais promissoras dos *EAPap* como um *smart material*

são sua flexibilidade, transparência, baixo custo, alta resistência mecânica, natureza renovável e biodegradabilidade [35]. São fabricados no formato de filmes finos com espessura de (20 – 30) μm , sendo revestidos com eletrodos de ambos os lados. A Figura 4 ilustra o funcionamento desse material.

Figura 4 - Ilustração dos EAPap e da sua forma de atuação, feitos a partir de filmes de celulose recobertos com eletrodos.

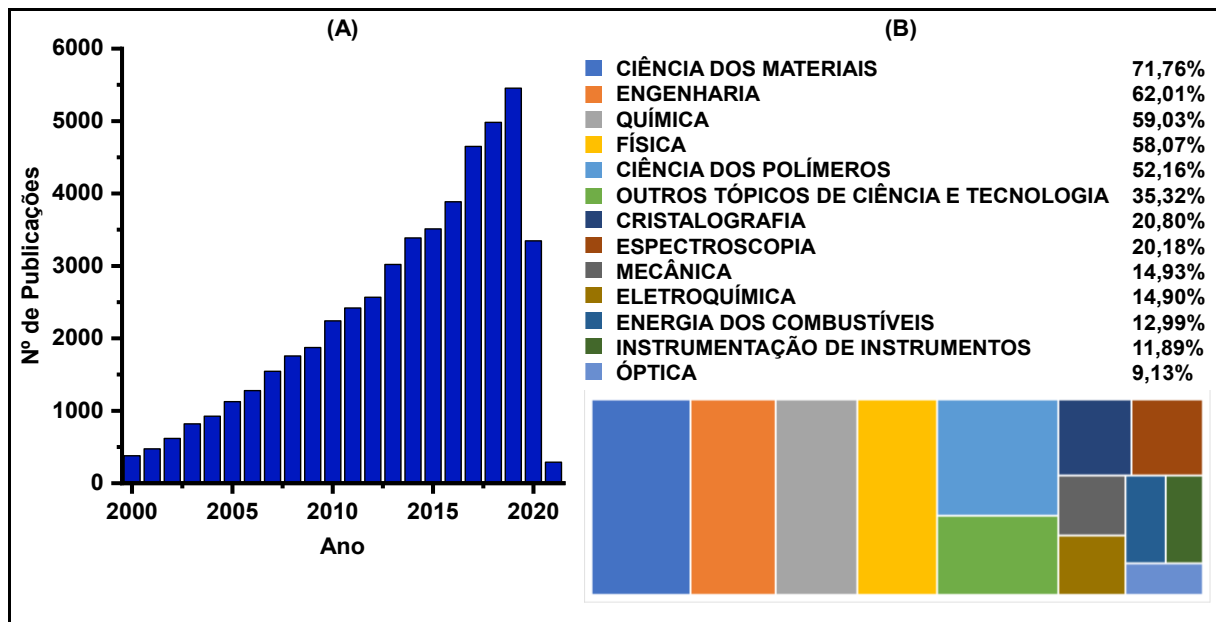


Fonte: Modificado [35].

Na região desordenada, as moléculas de água podem se mover livremente e interagir com os íons de sódio, resultando em um efeito de migração de íons. A estrutura cristalina presente na região ordenada é a responsável pelo efeito piezoelétrico. A combinação desses dois efeitos é o que possibilita a utilização desse material em dispositivos para armazenamento de energia [34,36], papéis funcionalizados para uso como substratos na área de eletrônica [37], capacitores flexíveis [38] e bionanomateriais [39].

As Figuras 5.a e 5.b mostram, respectivamente, o crescimento da pesquisa relacionada aos materiais híbridos utilizando polímeros e as áreas de pesquisa mais atuantes. Vê-se que esses materiais vêm ganhando maior destaque no decorrer dos anos, bem como se diversificando nas mais diferentes áreas. As porcentagens apresentadas não totalizam 100%, pois algumas dessas áreas de pesquisa são interdisciplinares, fazendo com que estejam em mútua conversação.

Figura 5 – (A) Número de publicações vs ano e (B) áreas que mais publicam sobre o assunto (%) obtidos a partir de pesquisa bibliográfica com as palavras-chave *hybrid materials* e *polymer*.

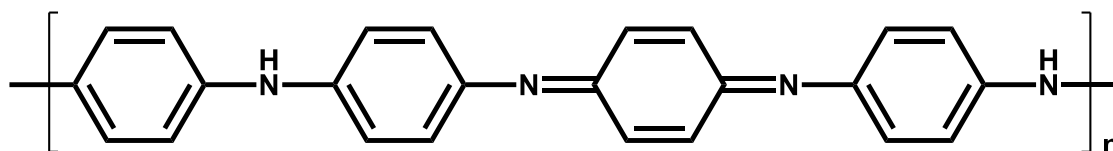


Fonte: Próprio autor.

Pesquisas mais recentes têm-se voltado para o desenvolvimento de partículas híbridas de nanocompósitos a partir da combinação de polímeros e nanopartículas magnéticas resultando na síntese de materiais com aplicações diversas, indo desde industriais a biomédicinas [40–43].

Um dos materiais mais utilizado dentro desses estudos é a polianilina (PANI) [44] que é um polímero semiflexível condutor da família dos semicondutores orgânicos [45]. Esse material é produzido a partir da oxidação da anilina que é obtida através do refino de alcatrão de carvão ou de óleos fabricados a partir do benzeno [46]. A Figura 6 ilustra a estrutura molecular da polianilina.

Figura 6 - Estrutura molecular da PANI.



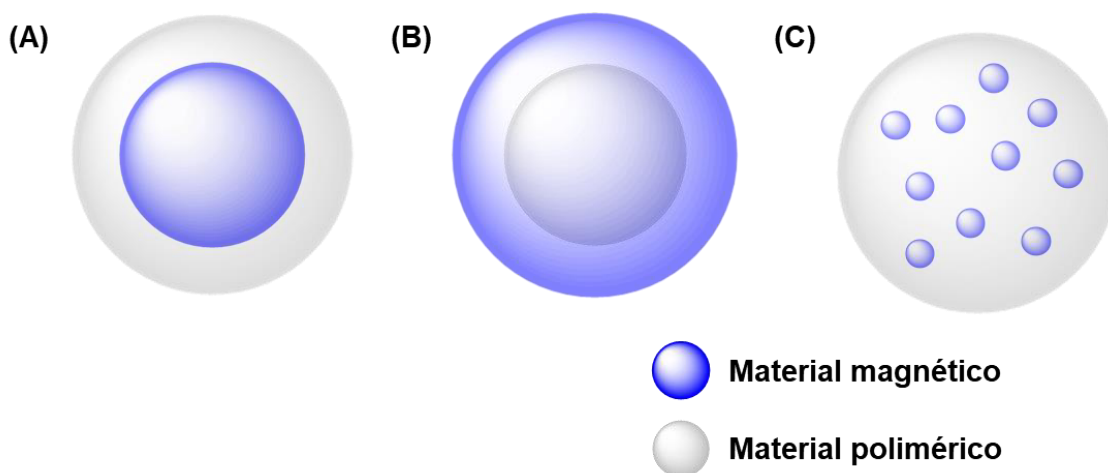
Fonte: Próprio autor.

A estrutura conjugada da PANI torna possível a condutividade devido à movimentação de elétrons π , sendo a presença de dopantes uma ferramenta para o aumento dessa condutividade [44,47].

Devido a presença de dois pares redox, a PANI pode atuar como mediador independente na aplicação como biosensor. Além disso, dada a sua biocompatibilidade *in vivo* e *in vitro*, esse material tem sido proposto na detecção de biomoléculas e de agentes com uma rápida resposta e alta sensibilidade [48,49].

Na formação de nanocompósitos, a PANI pode ser modificada com nanopartículas magnéticas, como óxido de ferro (Fe_3O_4), por exemplo [44]. Genericamente, esses nanocompósitos se apresentam de três diferentes formas, como pode ser visto na Figura 7 [50].

Figura 7 - Ilustração de diferentes morfologias de nanopartículas poliméricas magnéticas: (A) *magnetic core-polymer shell*, (B) *polymer core-magnetic shell* e (C) partículas magnéticas embebidas em material polimérico.



Fonte: Modificado de Q. Lu *et al.* [50].

Nanocompósitos poliméricos contendo nanopartículas magnéticas se mostraram úteis no aprimoramento da liberação de drogas [51], estudos relacionados a baterias de íon lítio [52], remoção de compostos fenólicos da água [53] e como biosensor em aplicações bioanalíticas [54].

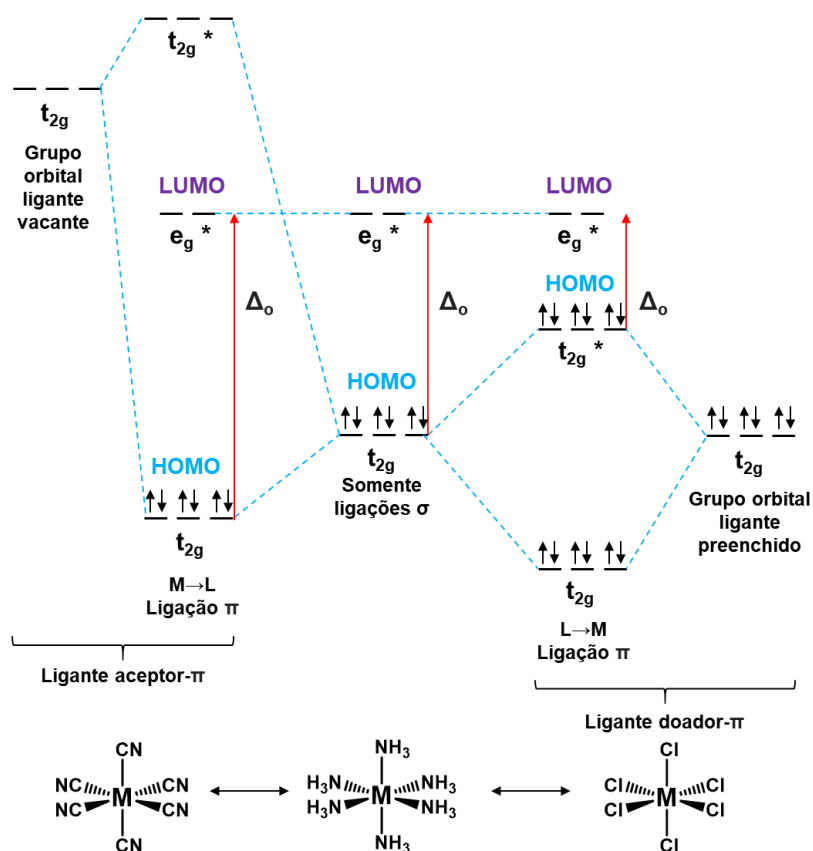
Outras aplicações possíveis de materiais híbridos se encontram na área de impressão tridimensional (3D), visto que a maior parte dessas impressoras utilizam a tecnologia *fused deposition modeling (FDM)*. De modo geral, tal tecnologia utiliza

polímeros termoplásticos na impressão. Esse material, contudo, não é destinado à impressão de objetos que possam ser estressados mecanicamente, visto que a resistência e flexibilidade de polímeros puros são reduzidas. A formação de materiais híbridos auxilia na melhoria dessas propriedades [55].

Inserida no contexto de materiais híbridos contendo polímeros biodegradáveis, a quitosana é um biopolímero obtido a partir da desacetilação controlada da quitina, o segundo polímero mais abundante [56]. As diversas aplicações desse material devem-se à sua biodegradabilidade, baixo custo e a propriedade de formar biofilmes, sendo muito utilizada na produção de biomateriais e até de sensores analíticos [57–61]. Além disso, a densidade de carga positiva da quitosana bem como as cadeias poliméricas que contêm numerosos grupamentos com oxigênio e nitrogênio permitem interações com outros compostos, sejam físicas ou químicas [62,63]. A literatura tem reportado, de fato, a produção de materiais híbridos à base de quitosana, sendo algumas das aplicações a adsorção de metais pesados ou corantes de águas residuais [64–67], degradação de moléculas prejudiciais ao meio ambiente [68–71], síntese de partículas sensíveis a estímulos externos que têm propriedade inibidora de corrosão [72–75] e filmes contendo compostos de coordenação com o objetivo de desenvolver sensores eletroquímicos e colorimétricos [76–81].

Nessa última aplicação, a literatura reporta a inclusão de compostos de coordenação devido às transições eletrônicas entre os diferentes níveis de energia dos orbitais moleculares de fronteira, HOMO (do inglês, *Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (do inglês, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). As reações experimentadas por esses compostos alteram a esfera de coordenação e, conseqüentemente, as energias dos níveis HOMO e LUMO [82]. As mudanças provocadas nos níveis de energia, por sua vez, resultam em absorções ou emissões de luz de diferentes comprimentos de onda. A Figura 8 ilustra as mudanças de energia do parâmetro de desdobramento (Δ_o) devido às interações de diferentes ligantes com o centro metálico em íons complexos octaédricos.

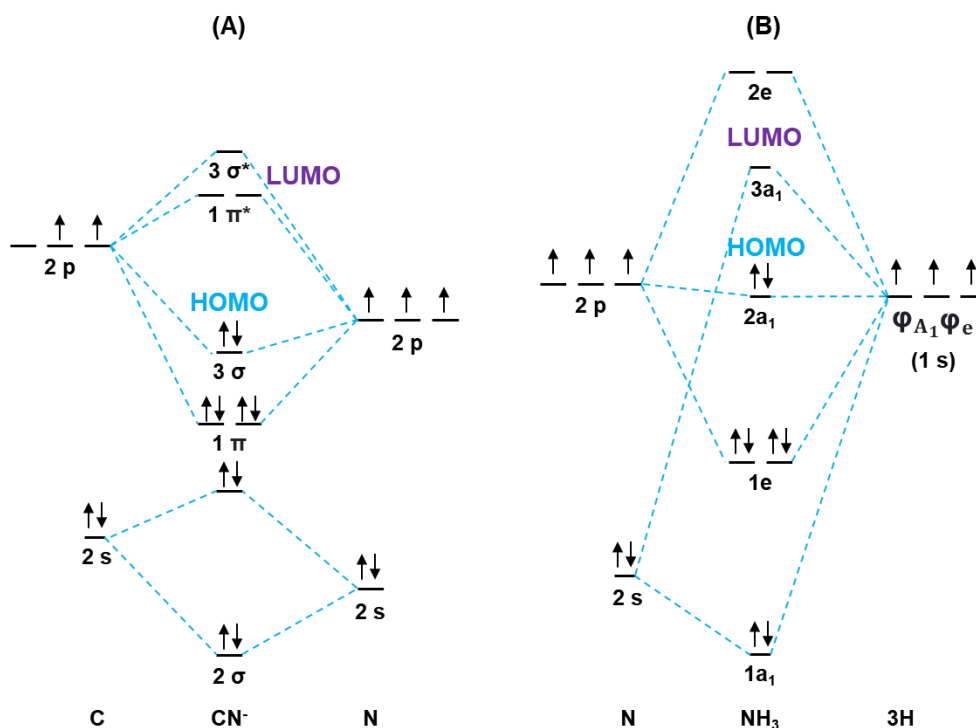
Figura 8 - Ilustração dos efeitos das interações π sobre o parâmetro Δ em íons complexos octaédricos.



Fonte: Próprio autor.

A superposição apenas entre orbitais de simetria sigma (σ) gera um conjunto de orbitais HOMO de simetria t_{2g} não ligantes (parte central da Figura 8). A diferença de energia entre esses orbitais e aqueles de simetria e_g^* , caracterizada pelo parâmetro Δ_o , está associada à energia da transição eletrônica $e_g^* \leftarrow t_{2g}$. A ligação do íon metálico central (M) a ligantes que possuem orbitais de simetria pi (π) formam orbitais ligantes e anti-ligantes afetando a energia dos orbitais t_{2g} e resultando em transições eletrônicas de diferentes comprimentos de onda. Assim, ligantes π receptores (lado esquerdo da Figura 8) aumentam o valor do parâmetro Δ_o , ao passo que bases π doadoras (lado direito da Figura 8) diminuem a diferença de energia entre os orbitais de fronteira. Em geral, quanto maior o valor do parâmetro de desdobramento, maior é a estabilidade termodinâmica do estado reduzido do íon complexo em análise. A Figura 9 ilustra os diagramas qualitativos de orbitais moleculares do íon CN^- , uma espécie π receptora, e da molécula NH_3 (interações unicamente σ).

Figura 9 – Diagramas qualitativos de orbitais moleculares do íon CN^- (A) e da molécula NH_3 (B) com destaque para os orbitais HOMO e LUMO.

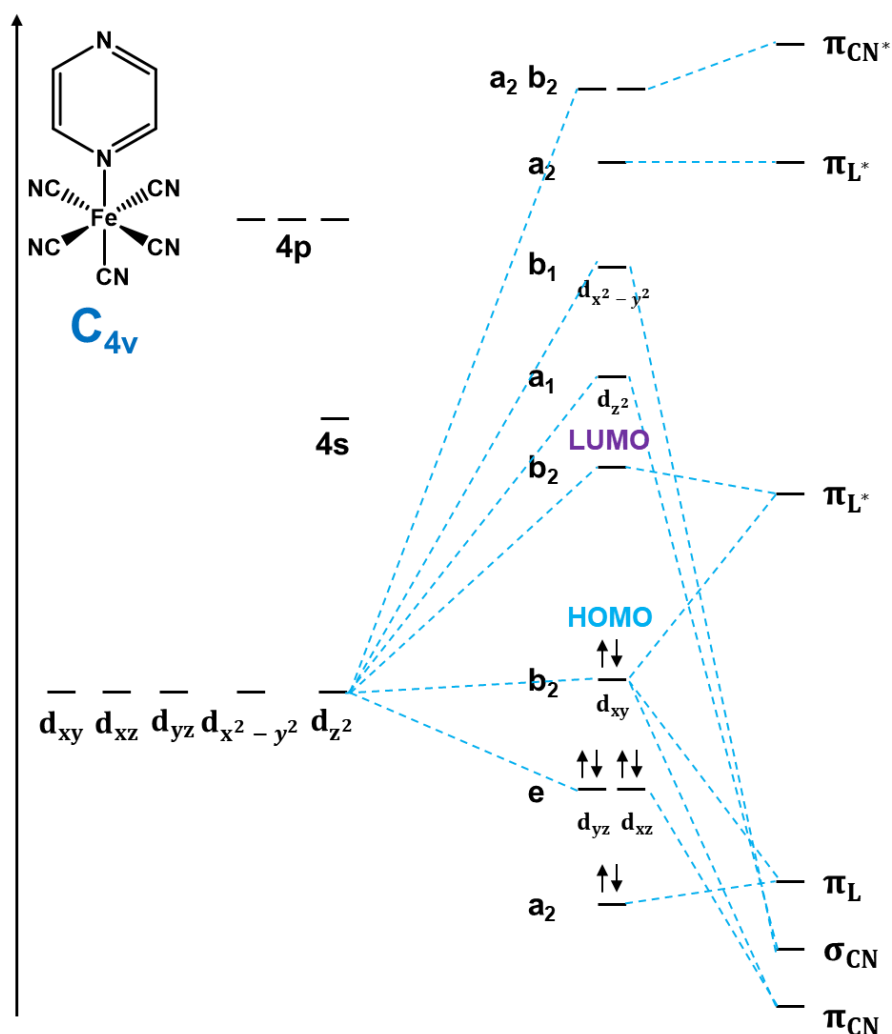


Fonte: Próprio autor.

Os orbitais HOMO ($2a_1$) e LUMO ($3a_1$) da molécula de amônia têm simetria σ , podendo formar, portanto, apenas ligações σ . O íon cianeto, contudo, apresenta como LUMO ($1\pi^*$) dois orbitais degenerados vazios que possuem simetria π e podem atuar como receptores- π através de interações de retrodoação. Isso caracteriza o íon CN^- como um ligante de campo forte que estabiliza o orbital HOMO do íon complexo, elevando o valor de Δ_o . O íon cloreto, em contraposição, possui seus orbitais $2p$ de simetria π preenchidos, atuando como doadores- π . Conseqüentemente, há a diminuição do valor de Δ_o , visto que a transição passa a acontecer de $e_g^* \leftarrow t_{2g}^*$ [83,84].

A troca de um ligante em compostos octaédricos reduz a simetria de O_h para C_{4v} alterando os níveis de energia dos orbitais moleculares como exemplificado na Figura 10 para o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{pz})]^{3-}$, em que um dos ligantes cianeto foi substituído por pirazina (pz).

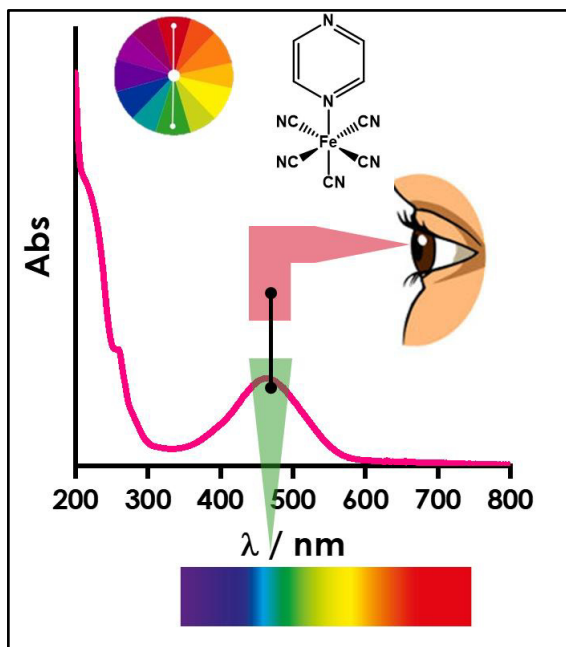
Figura 10 - Parte central do diagrama qualitativo de orbitais moleculares do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{pz})]^{3-}$, pz = pirazina.



Fonte: Modificado [85].

A formação do orbital anti-ligante b_2 , majoritariamente do ligante aromático N-heterocíclico (pz), permite uma transição eletrônica de transferência de carga do tipo MLCT (do inglês *metal-to-ligand charge transfer*) dos orbitais $b_2^*(\pi^*\text{pz}) \leftarrow b_2(d_{xy}\text{Fe}^{2+})$ de mais baixa energia que pode ser visualizada na região do visível do espectro eletromagnético [85]. Variações de energia são observadas, também, ao se alterar a natureza química do ligante substituinte possibilitando a utilização de compostos com uma posição lábil (passível de substituição) como sensor colorimétrico, como representado na Figura 11.

Figura 11 - Ilustração das cores observadas a partir de bandas de transição eletrônica existentes na região do visível.



Fonte: Próprio autor.

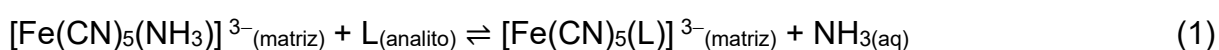
Essas mudanças sofridas pelos orbitais moleculares HOMO e LUMO dos íons complexos, garantem outras características, além da mudança de cor, como a presença de quimiluminescência devido às bandas de emissão formadas a partir de seus estados excitados e/ou formação de intermediários de reação.

Utilizando respostas fluorimétricas e colorimétricas, sensores analíticos têm sido desenvolvidos a partir de compostos de coordenação com o objetivo de detectar moléculas orgânicas [86,87], metais pesados [88,89] e ânions e cátions em análises de água residual e de potabilidade [90–92].

2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

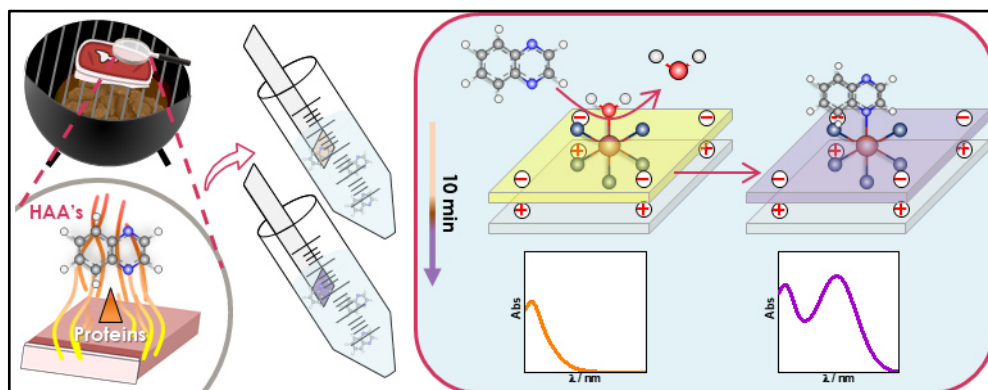
2.1 Justificativa

Este trabalho tem como justificativa e perspectiva a síntese de matrizes híbridas compostas de filmes de quitosana modificados com o íon complexo (amin)pentacianoferrato(II), $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$, para detecção de aminas aromáticas heterocíclicas. Tal perspectiva deve-se a resultados já reportados na literatura [76] que indicam a elevada afinidade desse complexo por ligantes heterocíclicos nitrogenados (L) devido à reação de substituição do grupo NH_3 , Equação 1:



A substituição do fragmento NH_3 , por sua vez, resulta em mudança de cor tornando possível sua utilização como sensor colorimétrico. A natureza sólida do filme permite, ainda, a produção de *strips* de papel, conforme ilustração na Figura 12, ou outros materiais possibilitando a aplicação das matrizes híbridas em meios heterogêneos.

Figura 12 - Exemplificação da proposta de produção dos *strips* de papel na detecção das ligantes heterocíclicos nitrogenados.



Fonte: Próprio autor.

A formação da matriz híbrida se baseia na adsorção do íon complexo sobre a superfície dos filmes devido às interações eletrostáticas entre os grupamentos amino da quitosana, positivamente carregados, e os ligantes cianetos do complexo, estes carregados negativamente.

O composto quinoxalina (IQx) foi utilizado como molécula de prova devido a sua semelhança com as moléculas originais, mostradas na Figura 1, visto que a coordenação ao íon Fe^{2+} deve ocorrer através do átomo de N do anel piridínico.

2.2 Objetivos Gerais

Sintetizar e caracterizar matrizes híbridas compostas de filmes de quitosana modificados com o íon complexo (amin)pentacianoferrato(II) para detecção de aminas aromáticas heterocíclicas em amostras de carne utilizando quinoxalina como molécula de prova.

2.3 Objetivos Específicos

- ✓ Sintetizar matrizes híbridas de filmes de quitosana contendo o íon complexo (amin)pentacianoferrato(II);
- ✓ Caracterizar o material produzido através das técnicas: microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de absorção atômica (AA), ângulo de contato e espectroscopia eletrônica nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis);
- ✓ Aplicar as matrizes híbridas na detecção de quinoxalina (molécula de prova);
- ✓ Aplicar as matrizes híbridas em amostras reais.

3 METODOLOGIA

3.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram obtidos de fonte comercial sem purificação prévia. Quitosana (grau de desacetilação 75-85%), quinoxalina ($\geq 99\%$) e ácido trifluoracético (99%) foram obtidos da Sigma-Aldrich. Nitroprussiato de sódio, $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (99%) e ácido acético ($\geq 99,7\%$) foram obtidos, respectivamente, das empresas Merck e Tedia. As soluções aquosas foram preparadas usando água ultrapura com resistência de 18 M Ω cm a 25 °C. Todos os outros solventes orgânicos utilizados possuíam grau analítico ou pureza comparável. A Tabela 1 apresenta os valores dos reagentes utilizados durante a execução do projeto, além da estimativa de preço de custo do material híbrido produzido.

Tabela 1 - Preços (em R\$) referentes aos materiais utilizados na produção do filme de quitosana modificado com o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$.

Produto / Informações	Embalagem		Preço (R\$)
Quitosana	50,0	g	527,00
Ácido Acético	1,0	L	96,00
Nitroprussiato de Sódio	25,0	g	270,00
Hidróxido de amônio	1,0	L	138,00
Preço do Analista			494,32
Pacote com 100 filmes			507,00
Preço de 1 filme			5,07
Área = 2,45 cm ²			
R = 1,25 cm			
Semicircunferência			

Fonte: Próprio autor.

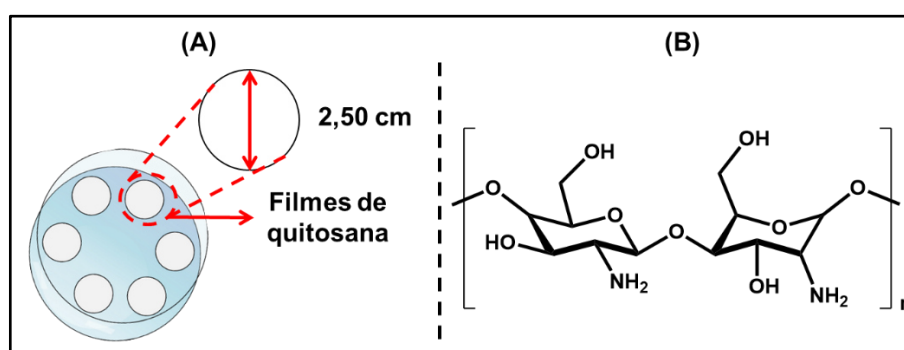
3.2 Síntese e caracterização das matrizes híbridas

3.2.1 Preparação dos filmes de quitosana

Foi preparada, inicialmente, uma solução de quitosana 2% (m/v) a partir da dissolução da respectiva massa do polímero (tipicamente 1,0 g para 50,0 mL) em solução de ácido acético 1% (v/v) sob agitação vigorosa, durante 2 horas. A filtração a vácuo foi realizada em seguida com o uso de um funil de vidro de placa porosa nº 0

para a remoção de impurezas sólidas. 1,0 mL dessa solução foi depositado em moldes circulares desenhados na placa de Petri, como mostrado na Figura 13, para a obtenção de filmes circulares de 2,5 cm de diâmetro. As placas permaneceram em uma caixa fechada contendo sílica gel em seu interior por 48h para secagem lenta e consequente formação dos filmes. Em seguida, os filmes foram removidos das placas de Petri com o auxílio de uma agulha.

Figura 13 - (A) Ilustração de uma placa de Petri de plástico utilizada na preparação dos filmes de quitosana; (B) estrutura simplificada da quitosana.



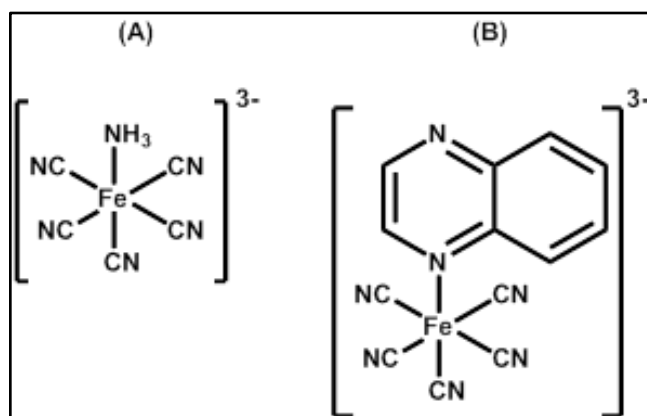
Fonte: Próprio autor.

Os filmes de quitosana foram caracterizados por espectroscopia eletrônica nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis), microscopia eletrônica de varredura (MEV), ângulo de contato com a água e espectroscopia por absorção atômica usando, respectivamente, os equipamentos Varian Cary 5000 UV-Vis-NIR, Quanta 450 FEG-FEI operando com uma tensão de aceleração de 5 kV, instrumento de ângulo de contato modelo GBX Instrumentation Scientific com uma gota de água destilada e Varian modelo AA240FS. Os experimentos de ângulo de contato foram realizados na EMBRAPA (Fortaleza, CE) no Laboratório de Tecnologia da Biomassa (LTB).

3.2.2 Síntese dos íons complexos $Fe(CN)_5(NH_3)]^{3-}$ e $Fe(CN)_5(IQx)]^{3-}$

O íon complexo de partida $[Fe(CN)_5(NH_3)]^{3-}$ foi sintetizado utilizando nitroprussiato de sódio ($Na_2[Fe(CN)_5NO].2H_2O$) em NH_4OH concentrado conforme descrito na literatura [93]. O íon complexo pentaciano(IQx)ferrato(II), $[Fe(CN)_5(IQx)]^{3-}$, em que IQx = quinoxalina (*vide* estruturas na Figura 14), foi sintetizado em solução a fim de ser usado como referência para os resultados obtidos para o composto produzido na matriz de quitosana.

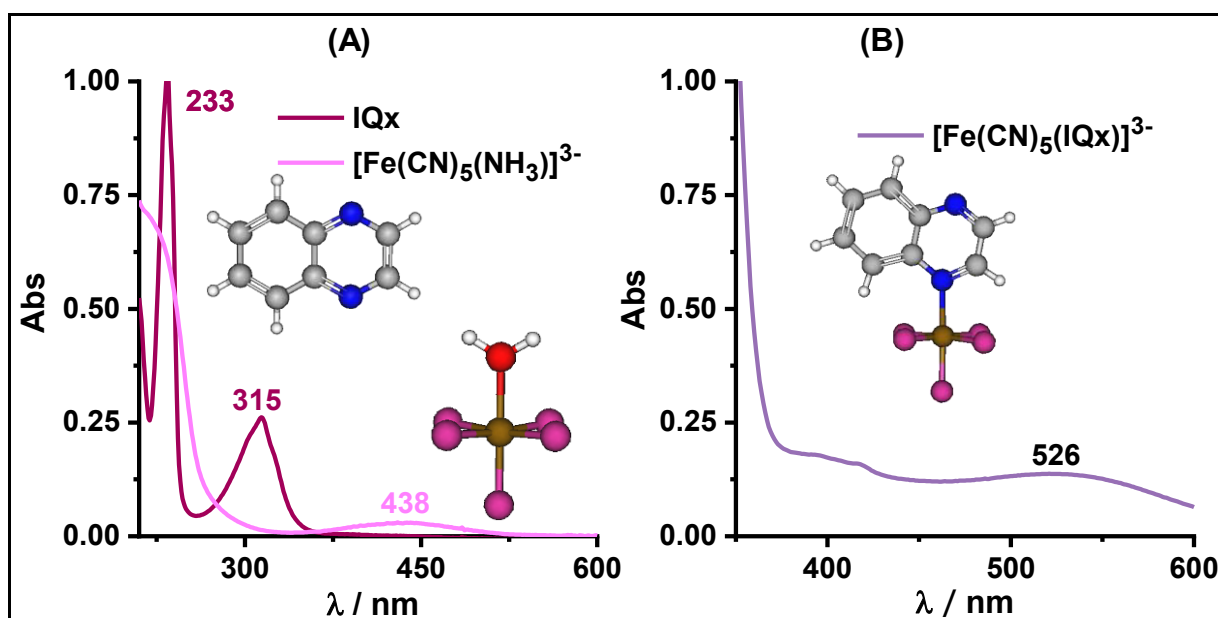
Figura 14 - Estruturas dos íons complexos; $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ (A) e $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ (B).



Fonte: Próprio autor.

A síntese do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ seguiu o procedimento descrito na literatura [94] e a caracterização foi realizada por espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis e voltametria cíclica. Os espectros e os voltamogramas obtidos encontram-se ilustrados nas Figuras 15 e 16, respectivamente.

Figura 15 - Espectros de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis dos compostos precursores quinoxalina (—) e $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ (—) (A) e do produto da reação $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ (—) (B) em solução aquosa na concentração de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



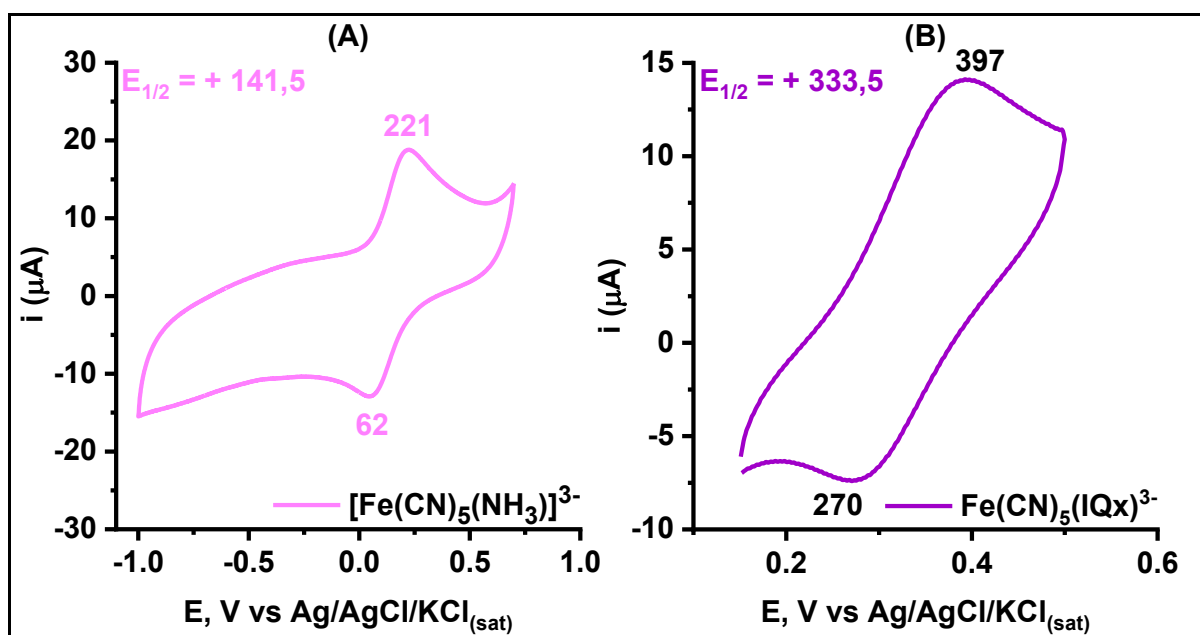
Fonte: Próprio autor.

O espectro do íon complexo de partida (Figura 15.a) apresenta uma banda de forte intensidade em $\sim 230 \text{ nm}$ atribuída às transições de transferência de carga do tipo MLCT (do inglês *metal-to-ligand charge transfer*) de orbitais $d\pi$ do íon Fe^{2+} para orbitais π anti-ligantes dos íons CN^- , $n\pi^*(\text{CN}^-) \leftarrow d\pi(\text{Fe}^{2+})$ [95]. A banda mais larga

com máximo em 438 nm é atribuída às transições de campo ligante e apresenta baixa intensidade por serem proibidas por simetria, de acordo com a regra de Laporte [82]. O espectro da base de Lewis quinoxalina apresenta absorções com máximos em 233 e 315 nm atribuídas às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ [96].

O espectro do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ ilustrado na Figura 15.b apresenta absorções com máximos em aproximadamente 400 e 420 nm atribuídas às transições intraligantes [97] e em 526 nm associada às transições de transferência de carga do tipo MLCT [94]. As transições de campo ligante, por serem de mais baixa intensidade encontram-se, provavelmente, encobertas pelas absorções de transferência de carga. O perfil espectral apresentado na Figura 15.b é consistente com aquele reportado na literatura [94] indicando a obtenção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$.

Figura 16 – Voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo em solução de NaTFA 0,10 mol L⁻¹ (pH 7,0) contendo o composto precursor (a) $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ (—) a 100 mV s⁻¹ e (b) o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ (—) a 500 mV s⁻¹.



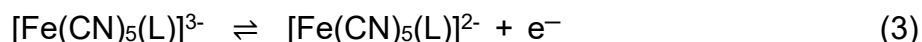
Fonte: Próprio autor.

Os valores de potencial de meia-onda ($E_{1/2}$) foram calculados a partir da Equação 2 [98]:

$$E_{1/2} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \quad (2)$$

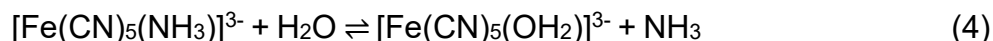
Em que E_{pa} e E_{pc} são, respectivamente, os potenciais de pico anódico e catódico.

Para os íons complexos $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ e $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$, os valores de $E_{1/2}$ foram observados em 141,5 e 333,5 mV vs Ag/AgCl, respectivamente, sendo atribuídos à reação de eletrodo genérica descrita na Equação 3, onde o processo redox está centrado no centro metálico:



Adicionalmente, o valor de 333,5 mV vs Ag/AgCl observado para o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ é consistente com dados publicados previamente [94] reforçando, assim, a obtenção do composto desejado.

O processo redox do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ observado no voltamograma ilustrado na Figura 16.a refere-se, efetivamente, ao íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$. O grupo NH_3 é cineticamente lábil e experimenta reação de substituição rápida quando o composto é dissolvido em água [99], como mostrado na Equação 4:

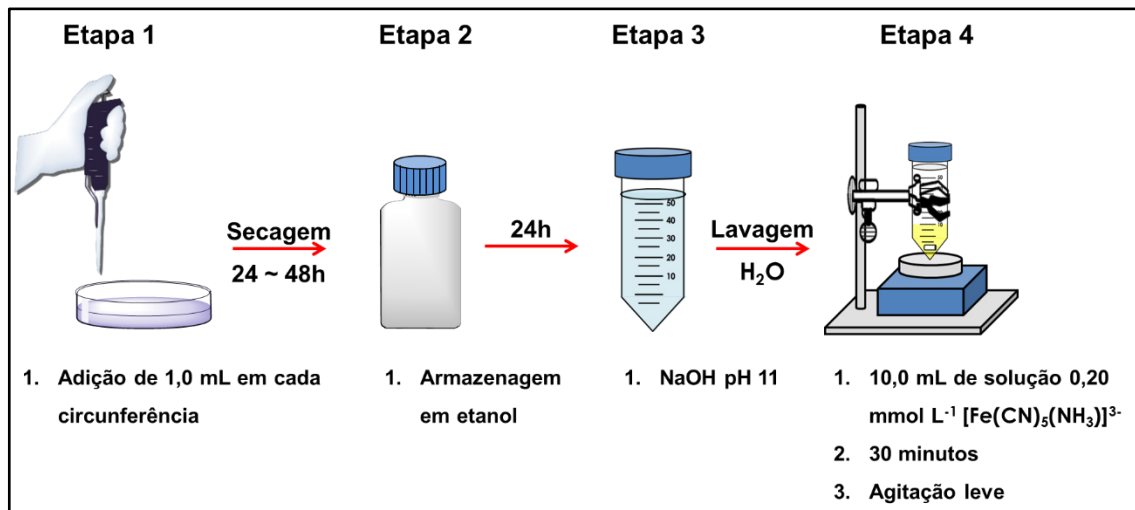


3.2.3 Modificação dos filmes de quitosana com o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$

Após a secagem dos filmes, estes foram retirados das placas de Petri para serem armazenados em etanol por, pelo menos, 24 horas, com o objetivo de incrementar sua resistência mecânica. Ao término desse tempo, os filmes foram imersos em solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH (pH 11) para que os grupos amino presentes na quitosana (*vide* Figura 8.b), anteriormente protonados pela dissolução em ácido acético, fossem neutralizados a fim de reduzir a absorção de água e, conseqüentemente, aumentar a estabilidade em meio aquoso. De acordo com a literatura [100,101], filmes de quitosana têm a tendência de absorver moléculas de água aumentando sua massa e perdendo suas propriedades mecânicas (resistência e flexibilidade). Após a etapa de neutralização, os filmes foram imersos em 10,0 mL de uma solução $0,20 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ para permitir a adsorção do íon complexo à matriz de quitosana. Como comentado previamente, o grupo NH_3 experimenta reação de substituição (Equação 4) quando em solução aquosa [99] de

modo que o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ é a espécie a ser considerada nas etapas de quantificação. A Figura 17 ilustra as etapas de formação das matrizes híbridas.

Figura 17 - Etapas de formação das matrizes híbridas.



Fonte: Próprio autor.

3.2.4 Quantificação de íon complexo adsorvido à matriz híbrida

Duas técnicas foram empregadas para a determinação da quantidade de íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ adsorvido na matriz de quitosana: (I) absorção atômica e (II) espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis. Para isso, foram preparados três filmes com os procedimentos descritos nas seções 3.2.1 e 3.2.3. Foram utilizadas duas técnicas distantes para avaliar a confiabilidade e o erro dos resultados obtidos.

Para a análise de absorção atômica, os filmes foram dispostos em frascos de vidro de 5,0 mL e pré-tratados (abertura das amostras) com a adição de 1,0 mL de ácido sulfúrico concentrado seguido de 0,5 mL de peróxido de hidrogênio em cada frasco. As soluções formadas permaneceram em repouso durante 30 minutos para a total dissolução dos filmes. Em seguida, as soluções foram diluídas em balões volumétricos de 10,0 mL para serem levadas a pH 3 com adições de 2,5 mL de uma solução de hidróxido de sódio $4,0 \text{ mol L}^{-1}$. Ao final, foram diluídas mais uma vez para um volume final de 25,0 mL.

A quantificação por espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis foi realizada a partir de uma curva de calibração construída com os valores de absorbância da banda em 230 nm, atribuída à transição $n\pi^*(\text{CN}^-) \leftarrow d\pi(\text{Fe}^{2+})$ do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ (ver Figura 15.a) [95]. Essa curva foi elaborada objetivando

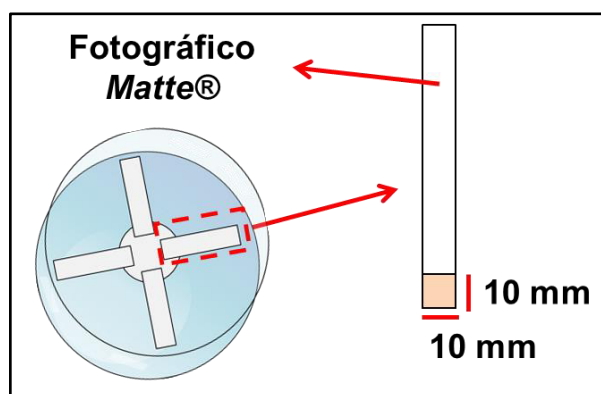
determinar a quantidade de composto adsorvido na matriz de quitosana por meio da diferença entre as concentrações das soluções antes e após o processo de adsorção. Para isso, foram preparados 50,0 mL de uma solução estoque $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ sendo realizadas diluições para as concentrações de $7,40 \times 10^{-5}$, $3,70 \times 10^{-5}$, $1,85 \times 10^{-5}$, $9,25 \times 10^{-6}$, $8,33 \times 10^{-6}$ e $7,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com diluições para balões volumétricos de 10,0 mL.

Os procedimentos de quantificação foram realizados em triplicata visando calcular parâmetros tais como desvio padrão, coeficiente de variação e os limites de detecção e de quantificação.

3.3 Produção dos *strips* de papel

Os *strips* de papel foram produzidos utilizando solução de quitosana preparada conforme procedimento da seção 3.2.1. Em uma placa de Petri, foram dispostas quatro tiras de papel fotográfico *Matte*® opostas umas às outras, como ilustrado na Figura 18. Em cada tira de papel, estava desenhado um quadrado com as dimensões de 10 x 10 mm, sendo esse o local de deposição de 0,10 mL da solução de quitosana. Essas foram deixadas para secagem durante 24 a 48h.

Figura 18 - Modelo utilizado na produção dos *strips* de papel.



Fonte: Próprio autor.

Após a secagem, os strips foram submetidos aos mesmos processos de armazenagem em etanol por, no mínimo, 24h, tratamento em solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH (pH 11) e, por fim, imersão em 10,0 mL de uma solução $0,20 \text{ mmol L}^{-1}$ de $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$.

3.4 Estudos de adsorção e dessorção

O estudo de adsorção foi realizado em triplicata seguindo o procedimento de modificação dos filmes descrito na seção 3.2.3. A cada 5 minutos, uma alíquota de 2,0 mL era retirada da solução para obtenção dos espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis. O monitoramento foi realizado através do acompanhamento do decaimento da banda em 230 nm, atribuída [95] à transição $n\pi^*(\text{CN}^-) \leftarrow d\pi(\text{Fe}^{2+})$ no íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ (ver Figura 15.a). Após a obtenção dos espectros, a alíquota retornava à solução de trabalho para evitar variações na concentração inicial. A temperatura para o experimento inicial foi controlada em 25 °C. Outras curvas de decaimento foram obtidas nas temperaturas de 40, 35, 20 e 15 °C para observar o comportamento entálpico do processo de adsorção.

Os experimentos de dessorção, também em triplicata, foram realizados em um tubo Falcon®, contendo 10,0 mL de água ultrapura, onde foi inserido o filme modificado e mantido sob agitação leve. A cada 10 minutos, uma alíquota de 2,0 mL era retirada para obtenção dos espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis. Tal como nos estudos de adsorção, as alíquotas eram retornadas à solução de trabalho com o objetivo de evitar variações na concentração inicial. Esses experimentos foram realizados apenas na temperatura de 25 °C.

3.5 Aplicação das matrizes híbridas

3.5.1 Aplicação das matrizes híbridas em soluções de quinoxalina

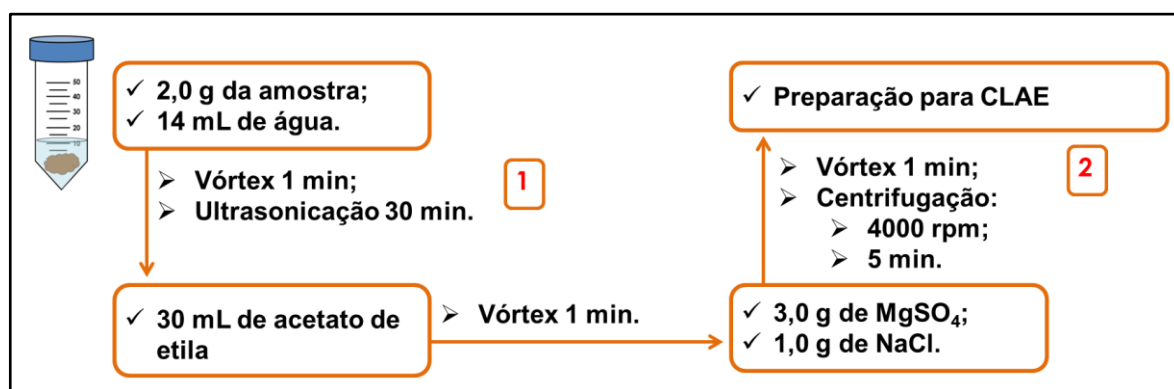
Após a modificação dos filmes com o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$, conforme descrito na seção 3.2.3, as matrizes híbridas formadas foram imersas em soluções 0,10 mol L⁻¹ de quinoxalina. Foi utilizada essa concentração para que os parâmetros desejados (cor e dados espectroscópicos) pudessem ser obtidos com maior intensidade, visando, em um primeiro momento, os estudos qualitativos. A reação de substituição (Equação 1) foi monitorada através das mudanças de cor, utilizando dois protocolos: (I) software ImageJ desenvolvido pela *National Institutes of Health* utilizado para obter os dados RGB das matrizes; (II) espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis. A sigla RGB refere-se à composição das cores vermelho (*Red*), verde (*Green*) e azul (*Blue*) que formam a cor final analisada. Esse

monitoramento teve como objetivo a determinação do tempo de exposição da matriz para detecção do analito.

3.5.2 Aplicação das matrizes híbridas em amostras reais dopadas com quinoxalina

Amostras de carne de hambúrguer da marca *Texas Burger* da Seara foram utilizadas como amostras reais neste trabalho. As amostras passaram por um tratamento prévio de extração [102] cujo fluxograma encontra-se ilustrado na Figura 19.

Figura 19 - Metodologia do tratamento de extração das amostras de carne.



Fonte: Próprio autor.

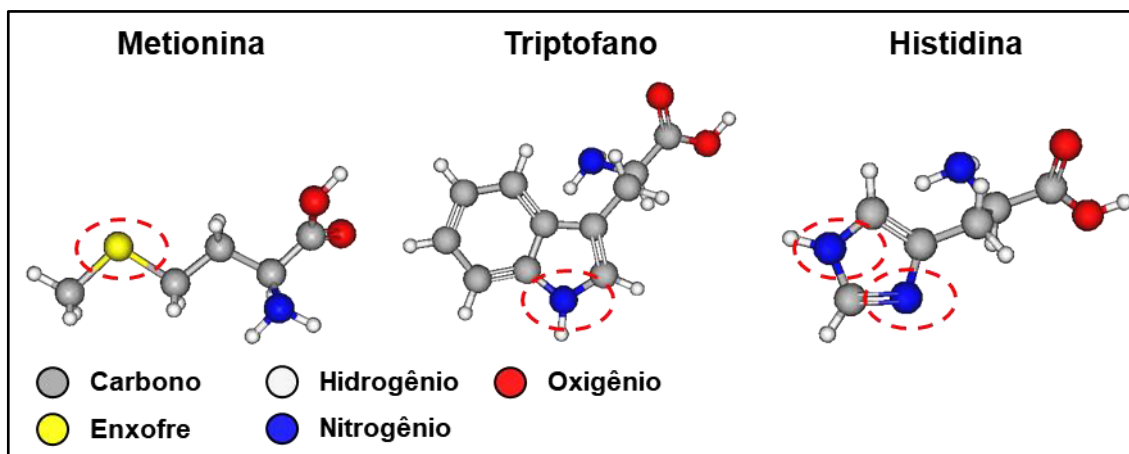
O procedimento foi dividido em duas partes: (I) dispersão de 2,0 g da amostra em 14 mL de água ultrapurificada, sendo levada ao vórtex e ao ultrassonicador seguida de (II) adição do acetato de etila e dos sais sulfato de magnésio e cloreto de sódio à dispersão anterior, passando, novamente, pelo vórtex e centrifugação. As matrizes híbridas foram imersas nas soluções para observar o comportamento das mesmas após contato com as amostras tratadas. As amostras foram dopadas com adição de 0,18 g de quinoxalina.

3.5.3 Estudo de interferentes

As carnes são ricas em diversos nutrientes como vitamina B12, ferro, zinco, proteínas e gorduras [103]. Alguns desses nutrientes possuem moléculas, tais como metionina, triptofano e histidina, cujas estruturas, ilustradas na Figura 20, apresentam sítios de coordenação ao centro metálico. Tal característica torna esses aminoácidos possíveis interferentes à detecção de quinoxalina e, conseqüentemente, de amins

aromáticas heterocíclicas. Na representação das estruturas os sítios de ligação ao centro metálico encontram-se destacados com um círculo tracejado vermelho.

Figura 20 - Estruturas moleculares dos aminoácidos metionina, triptofano e histidina com os sítios de coordenação.



Fonte: Próprio autor.

Foram preparadas duas soluções aquosas de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de metionina e de histidina e outra de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de triptofano, cada uma com volume de $5,0 \text{ mL}$. Foram utilizadas concentrações de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ para que fosse obedecida a proporção de 1:1 de aminoácido:quinoxalina para ser observado o comportamento da matriz híbrida frente aos dois ligantes. Devido à menor solubilidade do triptofano em água ($1,34 \text{ g} / 100 \text{ g de H}_2\text{O}$) [104], contudo, foi utilizada uma concentração na proporção de 1:10 de triptofano:quinoxalina. As matrizes híbridas foram imersas nessas soluções e, após 10 minutos, retiradas e imersas em soluções aquosas $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de quinoxalina durante 10 minutos. Após esse período, foram obtidos os espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis dos filmes utilizando o equipamento Varian Cary com suporte para sólidos. O mesmo procedimento foi aplicado ao filme após imersão em solução $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de quinoxalina contendo uma mistura de histidina ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) e triptofano ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$). Não foi observada reação entre a matriz híbrida e a metionina, portanto, essa não foi adicionada à solução mista.

A observação de alterações espectrais após imersão em solução de histidina implicou na realização de estudos espectroscópicos e eletroquímicos adicionais em presença deste aminoácido. Esses experimentos foram realizados em soluções obtidas a partir da adição de alíquotas de $0,10 \text{ mL}$ de uma solução $0,021 \text{ mol L}^{-1}$ de histidina à uma solução aquosa $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do íon complexo

$[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$. O monitoramento das reações químicas foi feito acompanhando-se o deslocamento e/ou desaparecimento da banda em 526 nm (Figura 15.b) e do processo redox centrado em 333,50 mV vs Ag/AgCl (Figura 16.b). Os mesmos procedimentos foram realizados em soluções de diferentes valores de pH (4,0; 5,0 e 6,5). O pH do meio foi modificado com adições de 0,10 mL de solução de ácido trifluoroacético (HTFA) 0,20 mol L⁻¹.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese das matrizes híbridas

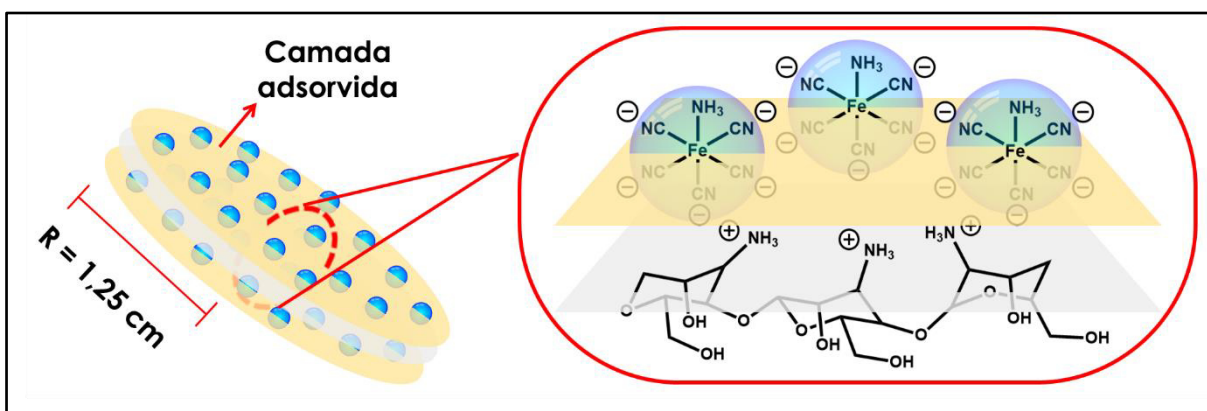
4.1.1 Síntese do filme de quitosana

A deposição da solução de quitosana em placas de Petri de plástico permitiu a obtenção de filmes reprodutíveis com formato circular com 1,25 cm de raio. Esses filmes foram cortados ao meio para facilitar sua rotação no interior do tubo Falcon® de 50,0 mL, seguindo o procedimento ilustrado na Figura 17.

A neutralização dos grupos amino na matriz de quitosana com solução 1×10^{-3} mol L⁻¹ NaOH (pH 11) na Etapa 3 permitiu a utilização do filme em meio aquoso, pois como a quitosana é solubilizada em solução de ácido acético 1% (v/v), a mesma passa a apresentar caráter catiônico, podendo tanto adsorver compostos aniônicos quanto apresentar hidrofiliçidade. Sendo assim, os filmes produzidos tendem a absorver água facilmente, perdendo suas propriedades mecânicas (resistência e flexibilidade), visto que essa absorção leva ao intumescimento ou à expansão. Além disso, a armazenagem em etanol, Etapa 2, teve o objetivo de aumentar a eficiência da neutralização, visto que este solvente dificulta a entrada de moléculas de água, tornando o filme mais compacto e resistente à deformação e ao intumescimento [105]. É importante ressaltar, porém, que a neutralização dos grupos positivos da fração orgânica (quitosana) da matriz não deve ser completa, uma vez que estes são responsáveis pelas interações com a fração inorgânica como explicado a seguir. Os tratamentos aplicados ao filme aumentam a distribuição dos íons complexos na superfície do mesmo, elevando sua exposição e facilitando a coordenação das aminas aromáticas ao centro metálico.

Após a síntese do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$, procedeu-se a sua incorporação ao filme de quitosana (Etapa 4). Tal processo foi possível devido, principalmente, às interações eletrostáticas existentes entre os grupamentos amino (positivamente carregados) dos filmes de quitosana e os ligantes cianetos (negativamente carregados) presentes no complexo, conforme ilustração representativa na Figura 21. A cinética de adsorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ no filme de quitosana com conseqüente formação da matriz híbrida foi estudada nos ensaios de adsorção.

Figura 21 - Representação das interações eletrostáticas entre os grupos amino (positivamente carregados) e os ligantes cianetos (negativamente carregados).



Fonte: Próprio autor.

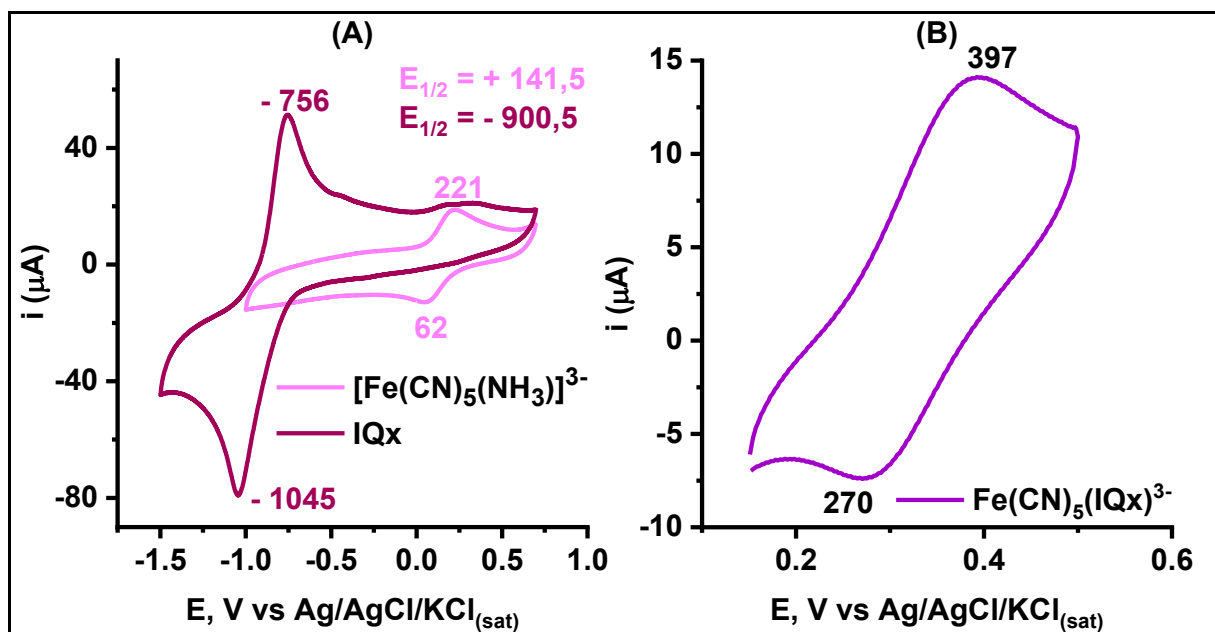
4.1.2 Síntese e caracterização dos íons complexos $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ e $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$

Após a síntese do complexo precursor $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$, procedeu-se a reação com a base quinoxalina em uma proporção de 2:1 de quinoxalina para (amin)pentacianoferrato (II) em solução aquosa, conforme procedimento descrito na literatura [94]. Ressalte-se que esse composto foi sintetizado em solução a fim de servir de referência para o composto formado na matriz híbrida.

Os compostos foram caracterizados por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis e por voltametria cíclica. Os espectros e os voltamogramas apresentados nas Figuras 15 e 16 indicam que os compostos obtidos são consistentes com aqueles reportados na literatura [94].

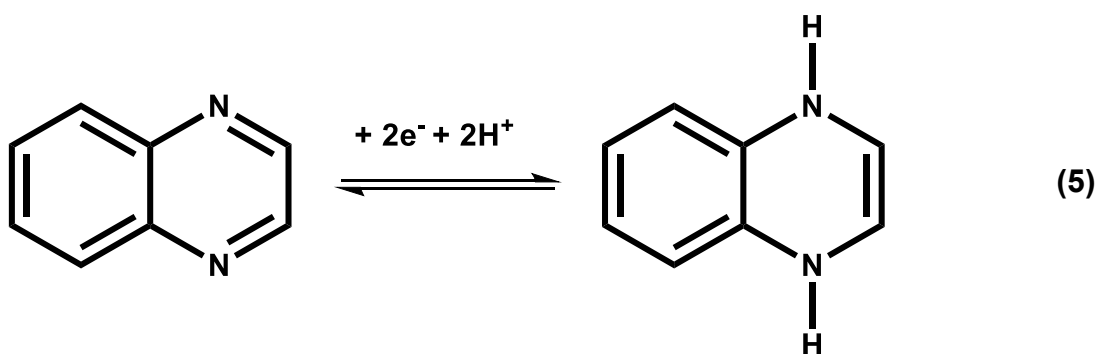
A Figura 22 apresenta, novamente, os voltamogramas dos íons complexos $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ e $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ juntamente com a curva obtida para o ligante IQx livre de coordenação para fins de comparação.

Figura 22 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo em solução de NaTFA 0,10 mol L⁻¹ (pH 7,0) contendo os compostos precursores (a) quinoxalina (—) e [Fe(CN)₅(NH₃)]³⁻ a 100 mV s⁻¹ e (b) o íon complexo [Fe(CN)₅(IQx)]³⁻ a 500 mV s⁻¹.



Fonte: Próprio autor.

O voltamograma cíclico da base de Lewis quinoxalina apresenta valor de $E_{1/2}$ de - 900,5 mV vs Ag/AgCl atribuído à reação de eletrodo representada na Equação 5 [106]:



O valor de $E_{1/2}$ observado para o ligante IQx indica que o processo redox dessa espécie não interfere nas variações de potencial associadas ao par redox Fe^{III/II}, observadas em valores mais positivos que 100 mV. Essa observação é relevante se

for considerada a utilização do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ para a detecção eletroquímica do composto IQx (ou derivados).

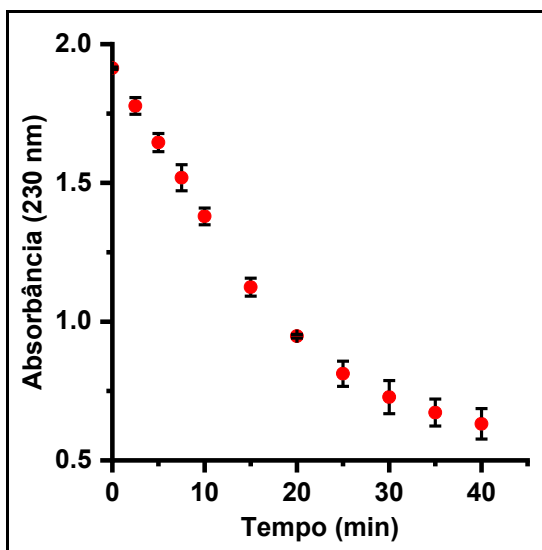
O processo redox do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ observado no voltamograma ilustrado nas Figuras 16.a 22.a refere-se, efetivamente, ao íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$. O grupo NH_3 é cineticamente lábil e experimenta reação de substituição rápida quando o composto é dissolvido em água [99], conforme Equação 4. Esse processo, todavia, não prejudica as reações para detecção de HAAs, uma vez que estas baseiam-se na substituição do sexto ligante, seja ele H_2O ou NH_3 .

Comparativamente ao íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$, o deslocamento positivo de potencial após coordenação do ligante IQx indica um incremento de estabilidade termodinâmica do centro metálico no estado reduzido (Fe^{II}).

4.1.3 Adsorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ no filme de quitosana

O monitoramento do processo de adsorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ no filme de quitosana foi realizado por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis através da banda em 230 nm. Os dados obtidos encontram-se ilustrados na Figura 23.

Figura 23 – Monitoramento do decaimento da banda em 230 nm durante o processo de adsorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ (2×10^{-4} mol L^{-1}) sobre quitosana a 25 °C.

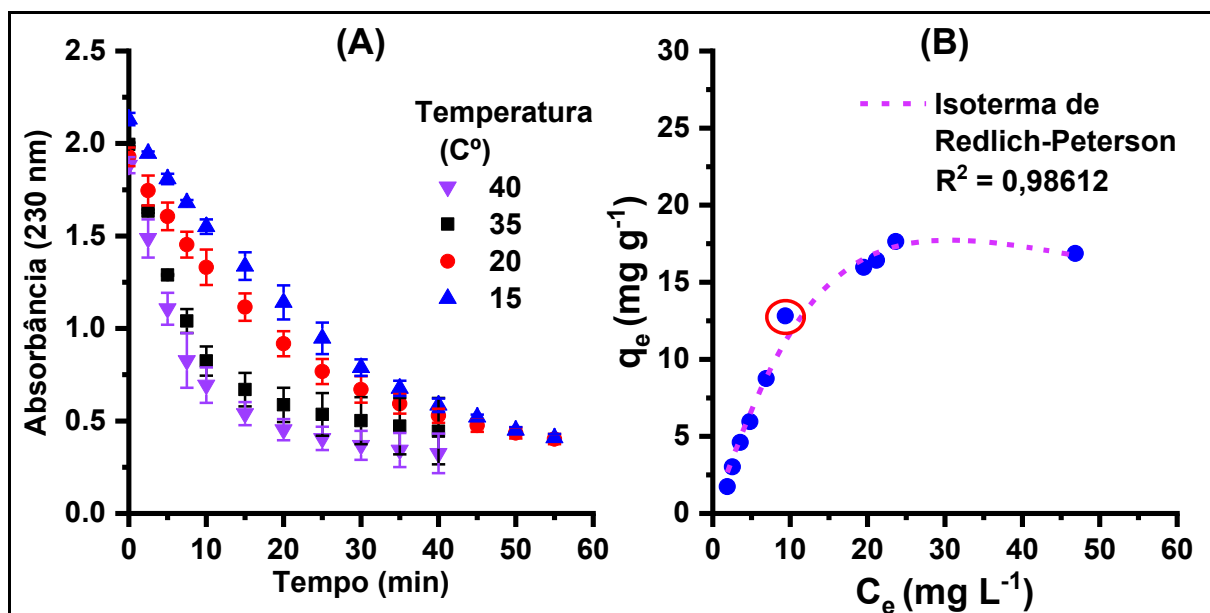


Fonte: Próprio autor.

Na Figura 23 tem-se o decaimento da absorbância da banda em 230 nm do íon complexo em solução, evidenciando, assim, a adsorção sobre o filme de quitosana. Vê-se que a partir de 30 minutos é, praticamente, estabelecido um platô, não havendo modificações significativas. Isso mostra que esse é o tempo necessário para a adsorção, considerando a temperatura e uma solução de concentração 2×10^{-4} mol L^{-1} .

Objetivando avaliar a contribuição entálpica a esse processo, foram obtidas curvas de adsorção nas temperaturas de 15, 20, 35 e 40 °C, ilustradas na Figura 24.a.

Figura 24 – (A) Monitoramento do decaimento da banda em 230 nm durante o processo de adsorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ sobre quitosana em diferentes temperaturas a partir de uma solução $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (B) isoterma de adsorção para diferentes concentrações do íon complexo a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.



Fonte: Próprio autor.

É possível observar que para temperaturas menores que $25 \text{ }^\circ\text{C}$, foi necessário um tempo maior que 30 minutos para a saturação do filme, sendo o mesmo estendido para aproximadamente 55 minutos nos casos de 20 e $15 \text{ }^\circ\text{C}$.

A isoterma da Figura 24.b foi construída a partir dos valores de concentração em solução (C_e) e no filme (q_e), sendo q_e calculado de acordo com a Equação 6 [107].

$$q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} \times V \quad (6)$$

Sendo C_0 e C_e as concentrações iniciais e no equilíbrio, respectivamente, do analito na fase líquida em mg L^{-1} , m a massa do adsorvente (g) e V o volume da solução (L). Os valores de q_e (mg g^{-1}) são referentes à quantidade de íon complexo adsorvida sobre o filme de quitosana, possibilitando a determinação das taxas de recuperação do analito em baixas concentrações bem como os pontos de saturação do filme [107,108]. A isoterma obedeceu ao modelo de Redlich-Peterson [109], podendo a saturação do filme ser melhor visualizada a partir da mesma.

A isoterma de Redlich-Peterson não obedece ao modelo ideal de adsorção em monocamada, sendo um híbrido entre as isotermas de Langmuir e Freundlich que incorpora três parâmetros (A, B e β) [110]. Essa isoterma é utilizada para representar o equilíbrio de adsorção em uma longa faixa de concentrações de adsorbato, sendo aplicável em sistemas homogêneos e heterogêneos. Esse modelo é definido de acordo com a Equação 7:

$$q_e = \frac{A.C_e}{1+B.C_e^\beta} \quad (7)$$

Sendo A e B constantes da isoterma de Redlich-Peterson, respectivamente, em $L g^{-1}$ e $L mg^{-1}$, e β é um expoente que varia entre 0 e 1. Quando β assume valores próximos de 1, tem-se uma aproximação do comportamento da isoterma de Langmuir. Já valores próximos de 0 indicam um comportamento da isoterma de Freundlich. Para o experimento em análise, foi obtido valor de β igual a 0,27, demonstrando um comportamento muito próximo ao modelo de Freundlich [110].

O modelo de Freundlich é empregado para descrever processos de adsorção em multicamadas sobre superfícies heterogêneas [111] sendo aplicável, portanto, ao processo de adsorção sobre filmes de quitosana devido à estrutura porosa deste polímero.

O ponto destacado no gráfico da Figura 24.b corresponde à concentração de $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, sendo possível observar que, a partir desta, tem-se um crescimento reduzido dos valores de q_e , indicando a saturação do filme de quitosana.

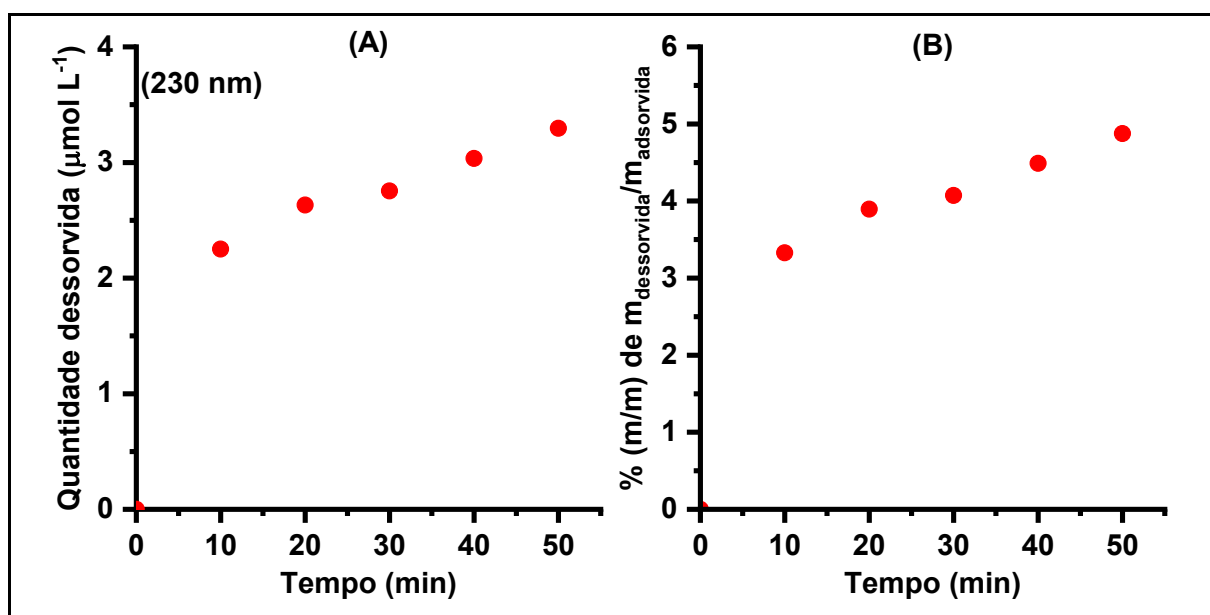
Os resultados apresentados demonstram que a adsorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$ ao filme de quitosana é dependente da temperatura, tendo um comportamento endotérmico. O erro observado nos experimentos se deve, principalmente, às variações das massas dos filmes, visto que a medida obtida experimentalmente são os valores das absorvâncias, não havendo normalização desses valores com relação à massa dos filmes. Para a determinação dos parâmetros termodinâmicos da reação, faz-se necessário a preparação de mais isotermas em diferentes temperaturas.

4.1.4 Dessorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ do filme de quitosana

A aplicação da matriz híbrida proposta neste trabalho inclui a imersão da mesma em meios aquosos. Nesse sentido, é fundamental avaliar a possibilidade de dessorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$, uma vez que esse processo resultaria na inatividade da matriz relativamente à detecção de AAHs.

O monitoramento da dessorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ do filme de quitosana foi realizado através do perfil da banda em 230 nm. Para tanto, a matriz híbrida foi imersa em água em um tubo Falcon® e mantida sob agitação lenta. As alíquotas foram retiradas em intervalos de 10 min para obtenção dos espectros de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis. Após cada medida, a alíquota era misturada à solução de trabalho para evitar desvios de concentração. Os dados finais foram plotados utilizando a curva de calibração descrita na seção 3.2.4. A Figura 25 mostra os valores das quantidades dessorvidas em $\mu\text{mol L}^{-1}$ durante o monitoramento bem como as porcentagens em relação à quantidade total adsorvida no filme em função do tempo.

Figura 25 - (a) Quantidade dessorvida de $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ em $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (b) porcentagens relativas à quantidade total adsorvida no filme em função do tempo de imersão da matriz híbrida em água.



Fonte: Próprio autor.

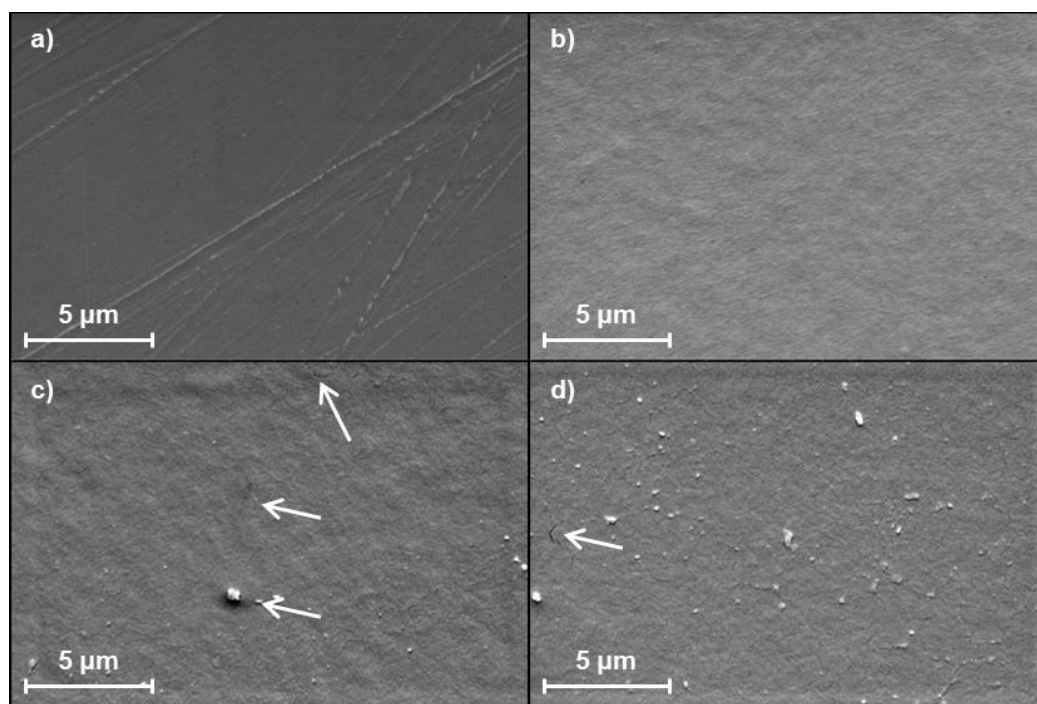
Os gráficos indicam que há dessorção do íon complexo (Figura 25.a) $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ durante 50 minutos de imersão em água. Essa etapa de dessorção

está associada, possivelmente, às moléculas de complexo adsorvidas na porção mais externa do filme de quitosana. Essa dessorção, todavia, acontece de forma lenta, visto que os valores de quantidade dessorvida em $\mu\text{mol L}^{-1}$ representam 4,87% (Figura 25.b) do total adsorvido mesmo após 50 minutos de imersão. Isso sugere que a perda de composto é irrelevante.

4.1.5 Caracterização da matriz híbrida

A avaliação das características topográficas obtidas a partir das imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) ilustradas na Figura 26 permitiu observar as modificações físicas geradas após cada etapa de síntese dos filmes.

Figura 26 – Micrografias (MEV) da superfície dos filmes modificados conforme as etapas de tratamento (Figura 17). a) Etapa 1 – remoção da superfície de secagem; b) Etapa 2 – imersão em etanol por 24h; c) Etapa 3 – imersão em solução de hidróxido de sódio; d) Etapa 4 – adsorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$.



Fonte: Próprio autor.

As ranhuras observadas na imagem da Figura 26.a devem-se à superfície de secagem utilizada, ou seja, a placa de Petri de plástico. Além disso, a remoção dos filmes com o uso de uma agulha também pode provocar a formação de ranhuras considerando que, na primeira etapa, os filmes se apresentam de forma mais rígida,

podendo sofrer arranhões. Na imagem 26.b, tem-se uma superfície mais rugosa e sem ranhuras devido, possivelmente, ao processo de desidratação induzido pela dispersão em etanol. De acordo com a literatura [112], esse processo favorece as interações intramoleculares de ligações de hidrogênio [113] entre as cadeias de quitosana tornando o filme mais compacto e melhorando suas propriedades mecânicas (resistência e flexibilidade).

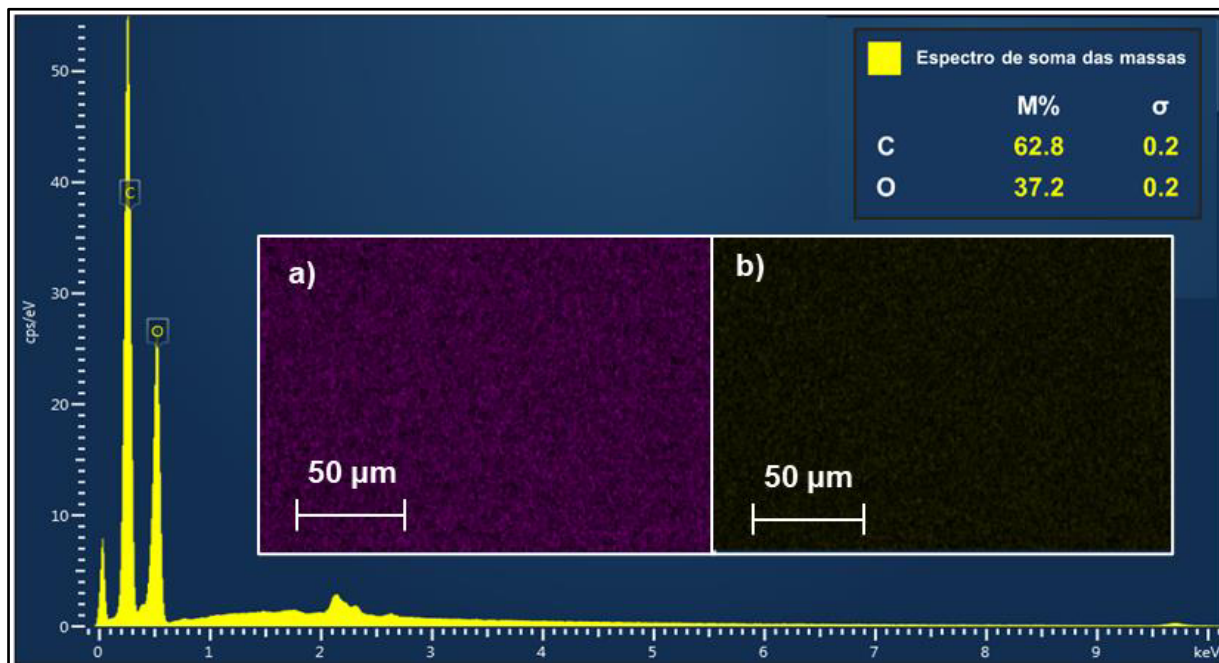
Ainda de acordo com a literatura, esse efeito é potencializado após neutralização com hidróxido de sódio, tratamento aplicado na Etapa 3. Pode-se observar na imagem da Figura 26.c, a formação de pequenas rachaduras e de aglomerados sobre a superfície do filme indicados nas setas brancas.

A formação desses aglomerados é atribuída à cristalização de fragmentos de quitosana devido à exposição à solução básica na Etapa 3. Resultados similares foram reportados na literatura [114]. Neste trabalho, entretanto, o diâmetro do maior aglomerado é de aproximadamente 0,648 μm , não sendo visivelmente perceptível.

O caráter catiônico conferido à quitosana devido à solubilização em ácido acético 1% (v/v) permite que haja tanto adsorção de compostos aniônicos quanto absorção de água, levando à perda das suas propriedades mecânicas, pois essa absorção leva ao intumescimento ou à expansão dos filmes, como explicado anteriormente. O tratamento com etanol e hidróxido de sódio, porém, permite a neutralização e conservação dessas propriedades, mesmo em meio aquoso. A formação das pequenas rachaduras na superfície do filme (Figura 26.c) evidencia uma expansão. Esse processo, contudo, é bastante reduzido devido ao tratamento utilizado, havendo a permanência da forma original do filme.

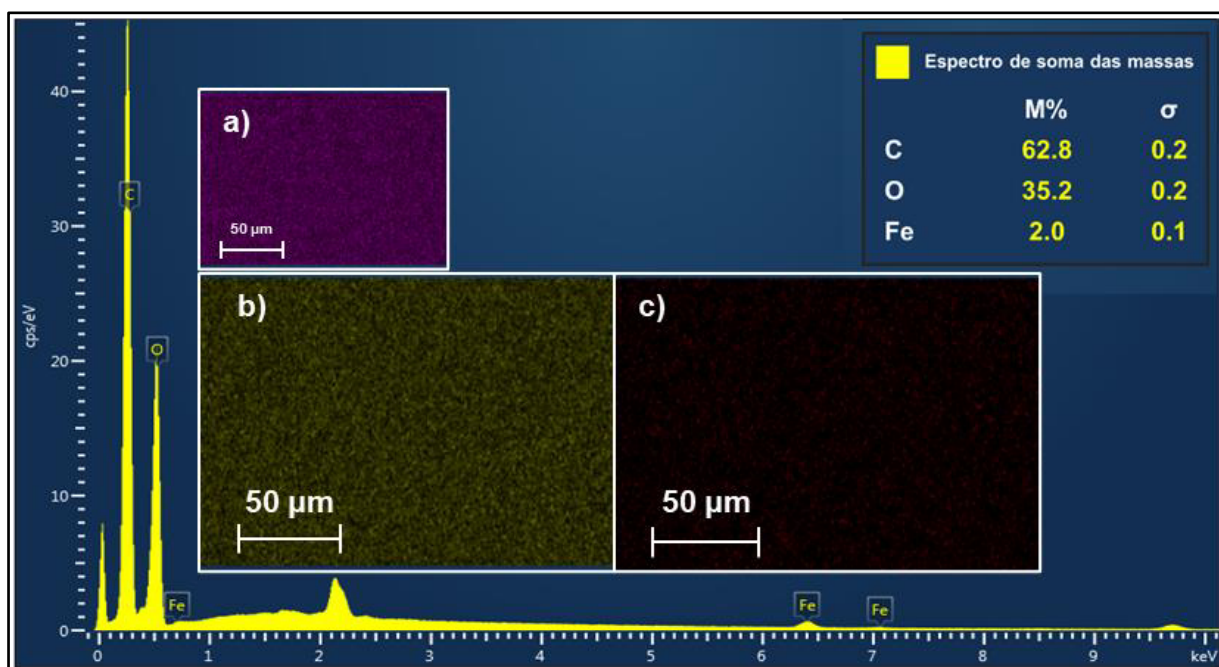
A imagem ilustrada na Figura 26.d foi obtida após a última etapa do tratamento, Etapa 4, em que é feita a adsorção do complexo por imersão do filme de quitosana em solução aquosa por 30 minutos. Excetuando-se os aglomerados formados na Etapa 3, não há grandes modificações topográficas indicando o aumento da resistência do filme à absorção de água. O processo de adsorção pode ser melhor avaliado, ainda que qualitativamente, a partir dos espectros de EDS ilustrados nas Figuras 27 e 28 e obtidos após as Etapas 3 e 4, respectivamente.

Figura 27 - Espectro de EDS do filme de quitosana obtido após a Etapa 3 do procedimento de síntese. Inseridos: mapeamento elemental de distribuição dos elementos a) C e b) O.



Fonte: Próprio autor.

Figura 28 - Espectro de EDS da matriz híbrida obtida após a Etapa 4 do procedimento de síntese. Inseridos: mapeamento elemental de distribuição dos elementos a) C; b) O e c) Fe.



Fonte: Próprio autor.

Comparativamente ao espectro do filme de quitosana (Figura 27), o espectro EDS da matriz híbrida (Figura 28) mostra a presença de ferro indicando a imobilização do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$, já que este composto é a única fonte de ferro no meio. A baixa porcentagem de ferro (2%) se deve à baixa concentração de complexo utilizada. Apesar de ser suficiente para saturar o material polimérico durante o processo de adsorção, a quantidade, em massa, de quitosana é consideravelmente superior. Ainda assim, é possível observar uma distribuição homogênea dos átomos de ferro sobre a superfície do filme de quitosana. As imagens obtidas por MEV e os espectros de EDS, em conjunto com os mapeamentos, fornecem uma informação qualitativa acerca da quantidade de complexo na matriz híbrida.

Para uma avaliação quantitativa, foram realizados experimentos de absorção atômica e espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis. A Tabela 2 mostra os resultados obtidos para as triplicatas referente à quantidade de complexo adsorvida.

Tabela 2 – Quantidades de $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ (em $\mu\text{mol g}^{-1}$) determinados por absorção atômica e espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis. Os dados de coeficiente de variação (CV) e valor médio são apresentados abaixo dos resultados obtidos.

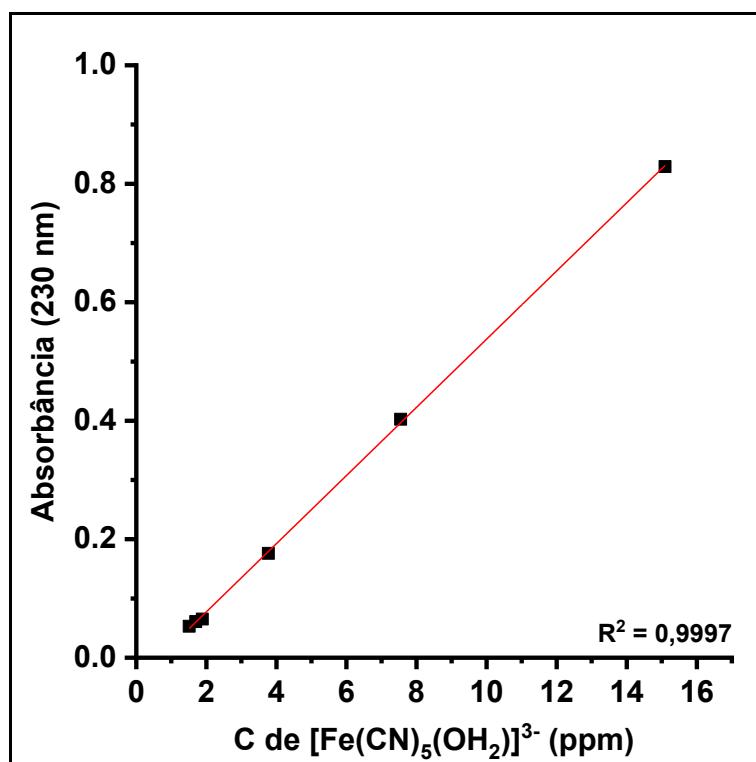
Amostra	Absorção Atômica		Espectroscopia Eletrônica	
	Massa (mg)	$\mu\text{mol g}^{-1}$	Massa (mg)	$\mu\text{mol g}^{-1}$
A1	22,30	58,31	19,00	51,63
A2	17,00	57,80	18,60	55,96
A3	16,50	56,29	19,50	54,40
		57,47 ± 0,86		54,00 ± 1,79
		CV: 1,49%		CV: 3,32%

Fonte: Próprio autor.

Os experimentos de espectroscopia eletrônica foram realizados a fim de servir de comparação com os dados determinados por absorção atômica. Esse procedimento se deve à possibilidade de supressão do sinal de ferro pelos íons sulfato e sódio [115] advindos dos reagentes ácido sulfúrico e hidróxido de sódio utilizados nas etapas de abertura das amostras e controle de pH, respectivamente.

A curva de calibração (Figura 29) para a quantificação por espectroscopia eletrônica foi construída a partir dos valores de absorvância da banda em 230 nm e apresentou limites de quantificação e de detecção de $1,08 \times 10^{-2}$ e $5,69 \times 10^{-3} \mu\text{mol mL}^{-1}$, respectivamente.

Figura 29 – Curva de calibração obtida para o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ com valores de absorvância da banda em 230 nm.



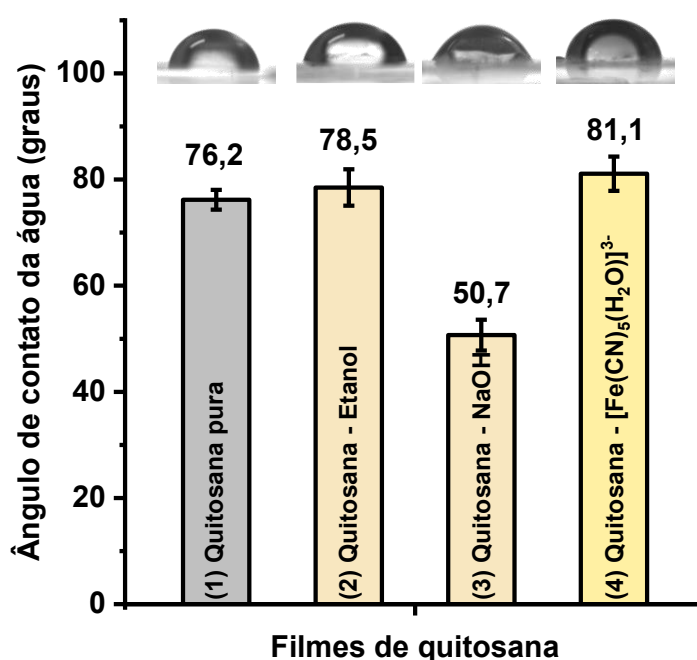
Fonte: Próprio autor.

Retirando-se o coeficiente de variação entre os resultados obtidos para os experimentos de absorção atômica e de espectroscopia eletrônica, obtém-se um valor de 4,01%, permitindo que os resultados sejam considerados iguais, visto que este parâmetro descreve a similaridade entre medidas, ou seja, quanto menor, mais coincidentes são as medidas [116]. Assim, a metodologia utilizada nesse trabalho permitiu calcular com confiabilidade a quantidade de composto adsorvida ($55,73 \pm 2,23 \mu\text{mol g}^{-1}$) a 25°C . Apesar de valores mais baixos ($\sim 25 \mu\text{mol g}^{-1}$) já publicados [117] para a incorporação do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ sobre quitosana, essas quantidades não são passíveis de comparação devido à natureza e metodologia de preparação dos filmes.

O ângulo de contato da água (θ) é definido como o ângulo formado entre um plano tangente a uma gota estática da água e o plano que contém a superfície, nesse caso os filmes de quitosana, em que o líquido foi depositado, sendo um indicador do grau de molhabilidade [118]. Nesse sentido, as superfícies podem ser classificadas como hidrofóbicas ($\theta > 90^\circ$), hidrofílicas ($\theta < 90^\circ$) e superhidrofóbicas ($\theta > 150^\circ$) [119].

A Figura 30 mostra os valores dos ângulos de contato entre a superfície dos filmes de quitosana nas diferentes etapas de preparação da matriz híbrida.

Figura 30 – Valores dos ângulos de contato com a água obtidos para os filmes de quitosana nas diferentes etapas de modificação.



Fonte: Próprio autor.

Como se pode observar na Figura 30, nas Etapas 1 e 2, os filmes de quitosana apresentam caráter hidrofílico, apesar de valores próximos a 90° indicarem hidrofobicidade. Após imersão em etanol, observa-se uma leve mudança de $76,2^\circ \pm 1,78^\circ$ para $78,5^\circ \pm 3,32^\circ$ indicando uma menor capacidade de absorção de água. Após tratamento com hidróxido de sódio (pH 11), contudo, há uma redução considerável no ângulo ($50,7^\circ \pm 2,90^\circ$), indicando incremento do caráter hidrofílico. Ao adsorver o íon

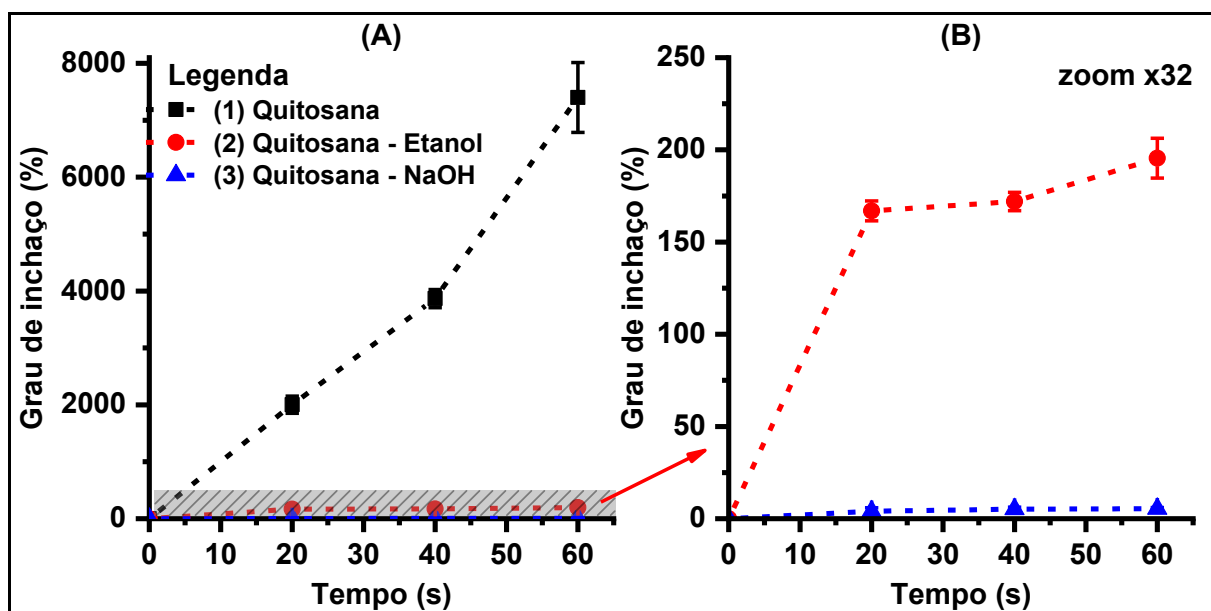
complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$, há mudança do ângulo de contato para $81,1^\circ \pm 3,22^\circ$, indicando a substituição de moléculas de água pelas do composto de ferro.

Para uma melhor interpretação dos resultados da Figura 30, foi realizado o cálculo do grau de intumescimento para cada etapa de tratamento do filme de quitosana. Foram preparados três filmes e esses foram imersos em água ultrapura no interior de três tubos Falcon®, sendo retirados a cada 20 segundos e pesados em uma balança analítica. O mesmo procedimento foi seguido para as Etapas 1, 2 e 3 de tratamento dos filmes, sendo os graus de intumescimento calculados através da Equação 8 [120]:

$$\text{Grau de intumescimento (\%)} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100\% \quad (8)$$

Em que W_t é a massa após imersão em água em função do tempo e W_0 é o peso inicial do filme. Os valores de grau de inchaço em função do tratamento aplicado ao filme encontram-se apresentados na Figura 31.

Figura 31 – Graus de inchaço (%) obtidos para os filmes nas três etapas de tratamento (Figura 17) anteriores à adsorção do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ (A) Etapas 1 (■), 2 (●) e 3 (▲) e (B) zoom x32 dos gráficos obtidos para as Etapas 2 (●) e 3 (▲).



Fonte: Próprio autor.

Pelo gráfico apresentado na Figura 31, é possível observar que a quitosana sem tratamento prévio (Etapa 1) apresenta elevada absorção de água em uma faixa

curta de tempo. O aumento do erro em 60s se deve a perda de massa dos filmes que, após esse tempo, apresentaram aspecto gelatinoso.

A partir do tratamento com etanol (Etapa 2), observa-se uma diminuição para a faixa de 150 – 250%, indicando uma drástica redução na capacidade de absorver água. Observa-se, contudo, um crescimento lento, mostrando que há absorção em decorrência, possivelmente, de alterações no nível de organização das estruturas poliméricas que tornam o filme mais resistente.

A partir do tratamento com NaOH (Etapa 3), entretanto, vê-se uma queda para, aproximadamente, 4 – 5%, mantendo-se praticamente constante. A imersão na solução de hidróxido de sódio impede, quase que completamente, a absorção de água.

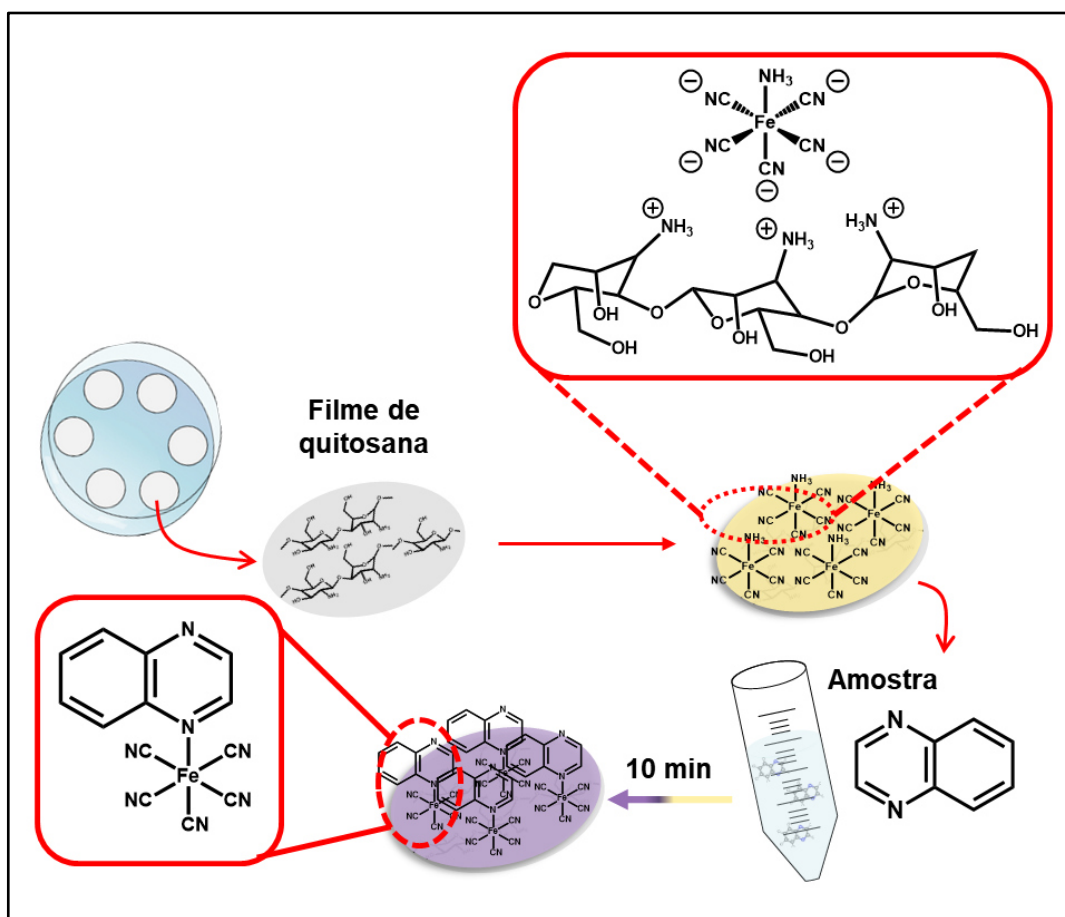
O valor obtido de $50,7^\circ \pm 2,90^\circ$ (Etapa 3) se deve à estrutura dos filmes de quitosana [121], pois essa permite que moléculas de água experimentem adsorção sobre a superfície dos filmes, mesmo após a imersão em solução de hidróxido de sódio. Atribui-se a diminuição do ângulo de contato às interações intermoleculares de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água adsorvidas e as da gota d'água. A absorção de água pelo filme, entretanto, não foi observada.

4.2 Aplicação das matrizes híbridas na detecção de AAHs

4.2.1 Aplicação das matrizes híbridas em soluções de quinoxalina

Após a preparação e caracterização das matrizes, as mesmas foram imersas em soluções aquosas contendo quantidades conhecidas de quinoxalina (IQx), a molécula de prova empregada neste trabalho. A Figura 32 ilustra, de forma representativa, esse procedimento experimental e a reação de substituição do grupo NH_3 por IQx.

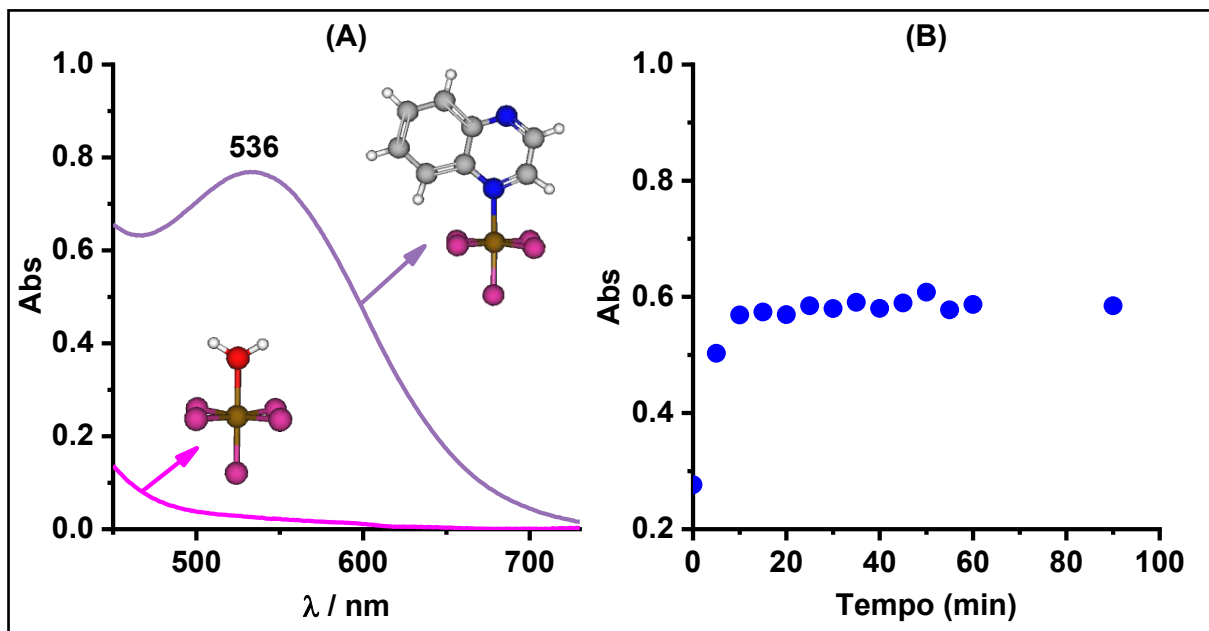
Figura 32 - Ilustração representativa das etapas de utilização das matrizes híbridas em soluções aquosas padrões de quinoxalina.



Fonte: Próprio autor.

As matrizes, originalmente na cor amarelo claro devido às transições eletrônicas do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$, mudam a coloração para roxa em função das transições de transferência de carga do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$, conforme previamente discutido na seção 4.1.2. Esse comportamento indica, portanto, a possibilidade de uso da matriz híbrida quitosana/ $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ como sensor colorimétrico visual de aminas heterocíclicas aromáticas. A Figura 33 ilustra os espectros de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis das matrizes híbridas antes e após exposição à solução de IQx.

Figura 33 - Espectros de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis da matriz híbrida (a) antes e após 10 minutos de imersão em solução 0,10 mol L⁻¹ de IQx e (b) gráfico de absorbância ($\lambda = 536$ nm) vs tempo durante imersão em solução 0,01 mol L⁻¹ de IQx.



Fonte: Próprio autor.

O acompanhamento da intensidade da banda em 536 nm em função do tempo de imersão da matriz híbrida em solução de IQx indica que o processo de detecção ocorre rapidamente, não sendo necessário períodos de imersão mais longos que 10 min, considerando as condições experimentais empregadas.

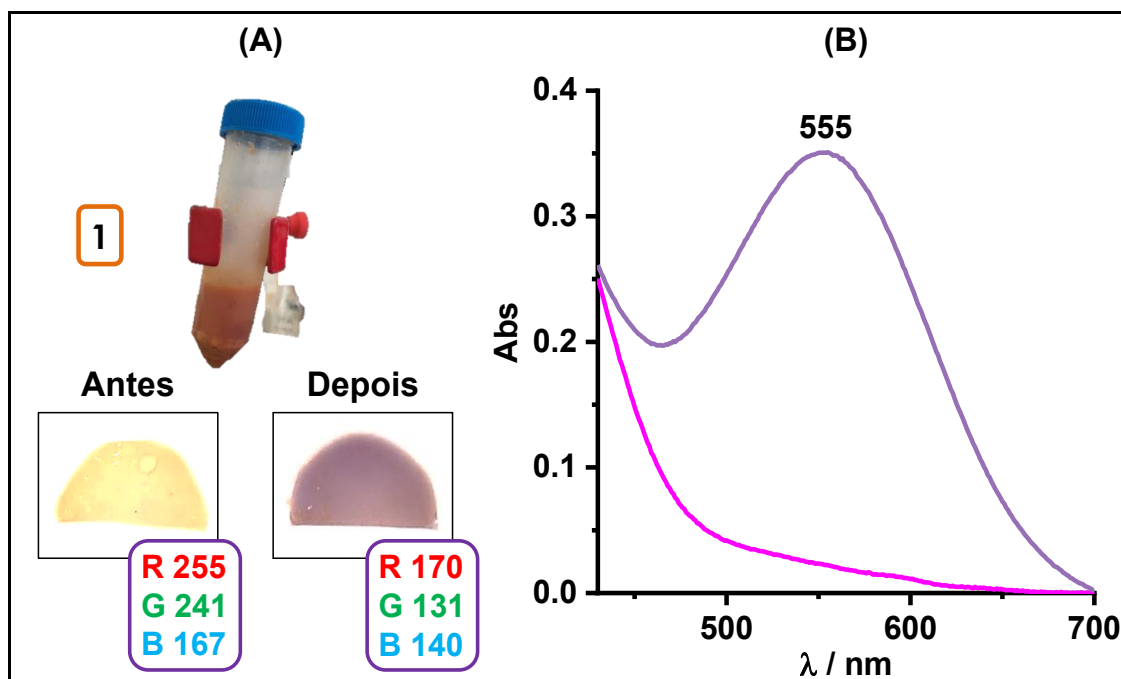
4.2.2 Aplicação das matrizes híbridas em amostras de carne dopadas com quinoxalina

Visando a aplicação das matrizes híbridas em amostras reais, foram usadas, inicialmente, soluções contendo carne de hambúrguer dopadas com IQx. A fim de avaliar a influência da presença de solventes orgânicos no processo de detecção, a imersão das matrizes foi realizada em dois momentos distintos da preparação dessas amostras (seção 3.5.2): (I) antes e (II) após a adição do acetato de etila, conforme a Figura 19.

A Figura 34.a mostra o tubo Falcon® contendo a solução da amostra conforme preparação (I) e as fotografias das matrizes antes e após imersão de 10

minutos na solução da amostra. Na Figura 34.b são ilustrados os espectros eletrônicos de absorção nas regiões do UV-Vis das matrizes antes e após a imersão.

Figura 34 - (A) Tubo Falcon® com solução da amostra sem adição de acetato de etila (após sonicação por 30 minutos) e fotografias das matrizes antes e após imersão na solução da amostra, (B) espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis das matrizes antes (—) e após (—) imersão na solução da amostra.



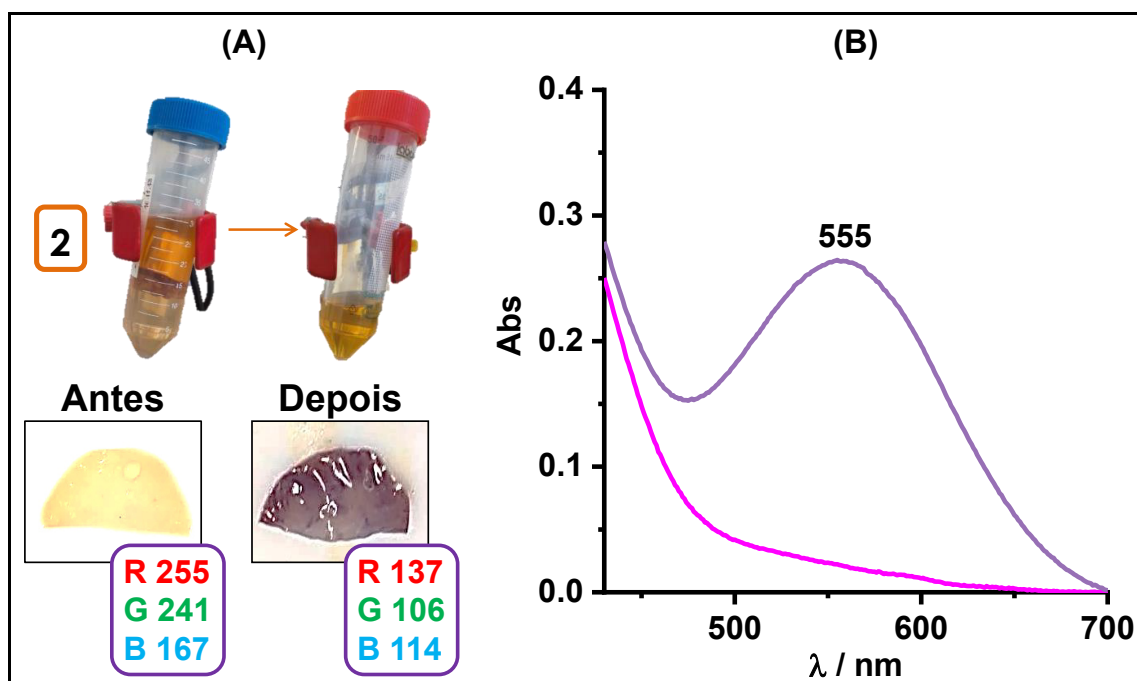
Fonte: Próprio autor.

A mudança de coloração do amarelo para o roxo indica a formação do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$, conforme previamente discutido. O espectro apresentado na Figura 34.b reforça esse resultado. Comparativamente ao espectro apresentado na Figura 33.a (matriz híbrida em solução aquosa padrão de IQx da seção 4.2.1), observa-se um deslocamento do máximo da banda de transferência de carga de 536 para 555 nm. Esse comportamento se deve, muito provavelmente, à presença de matéria orgânica (dissolução da carne) que afeta as propriedades do meio, como polaridade e constante dielétrica que, por sua vez, influenciam as energias das transições eletrônicas [122].

No procedimento (II) de preparo da amostra, observou-se a formação de duas fases (tubo Falcon® de tampa azul na Figura 35) após mistura com acetato de etila e centrifugação por 5 minutos, estando as fases aquosa e orgânica nas partes inferior e superior do tubo, respectivamente. A matriz híbrida foi imersa na fase

orgânica durante 10 minutos (tubo Falcon® de tampa vermelha na Figura 35.a), sendo a Figura 35.b o espectro eletrônico obtido.

Figura 35 – (A) Tubos Falcon® com solução da amostra após adição de acetato de etila (tampa azul: duas fases após centrifugação de 5 min) e fotografias das matrizes antes e após imersão em acetato de etila (tampa vermelha); (B) espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis antes (—) e após (—) imersão na solução de amostra.



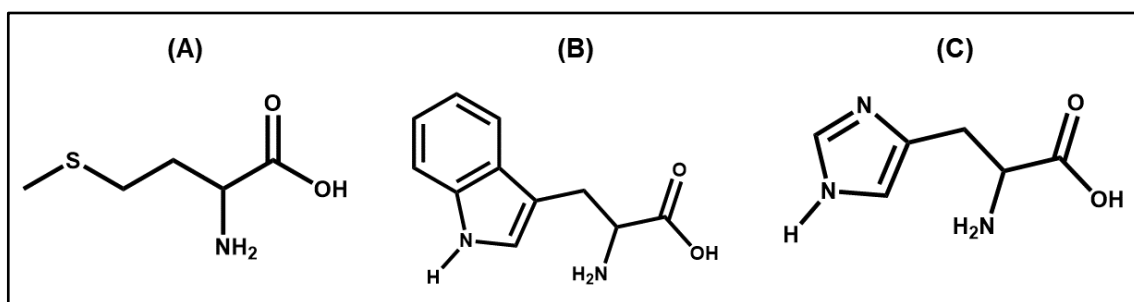
Fonte: Próprio autor.

Os resultados obtidos para as amostras de carne foram semelhantes sugerindo que a presença de solvente orgânico não afeta a capacidade da quinoxalina se coordenar ao íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$. O aspecto físico da matriz, porém, experimentou alteração tornando-se mais rígido após imersão em meio contendo acetato de etila.

4.2.3 Estudo de interferentes

Os experimentos foram realizados com os aminoácidos apresentados na Figura 36, sendo eles (A) metionina (met), (B) triptofano (trp) e (C) histidina (his).

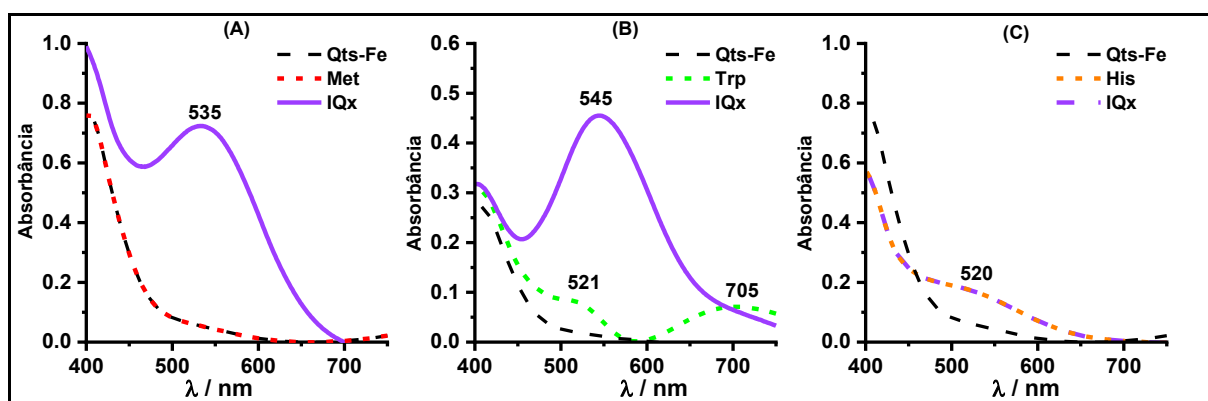
Figura 36 - Estruturas moleculares dos aminoácidos (A) metionina (met), (B) triptofano (trp) e (C) histidina (his).



Fonte: Próprio autor.

Foram preparadas três soluções nas concentrações de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ dos aminoácidos histidina e metionina e $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ para o triptofano devido à sua menor solubilidade em água. Em cada solução foi imersa uma matriz híbrida durante 10 minutos seguida de imersão em solução $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de quinoxalina por mais 10 minutos. A Figura 37 mostra os espectros de absorção eletrônica das matrizes híbridas nas três soluções.

Figura 37 – Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Vis das matrizes híbridas após imersão por 10 minutos em solução de (A) met (•••), (B) trp (•••) e (C) his (•••), seguidas de imersão (10 min) em solução de IQx (—), Qts-Fe = Quitosana/ $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$.



Fonte: Próprio autor.

Observa-se que para a metionina (Figura 37.a) não há modificações no espectro eletrônico do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$, indicando que não houve coordenação do aminoácido. Além disso, após a imersão na solução de IQx, vê-se a formação da banda em 535 nm atribuída à transição MLCT do íon Fe^{2+} para o ligante

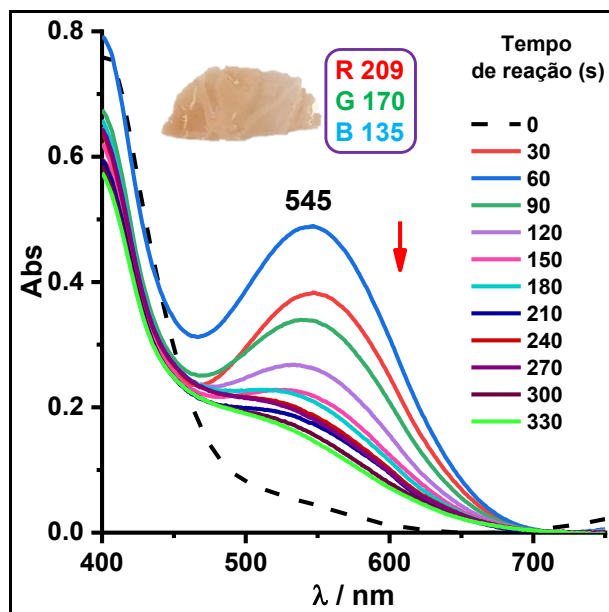
IQx como previamente discutido (Figura 33.a). Esse resultado sugere que não há interferência por parte da metionina.

Para o triptofano (Figura 37.b) observa-se, inicialmente, a formação de duas bandas em 521 e 705 nm atribuídas às transições MLCT de orbitais $d\pi$ do íon Fe^{2+} para orbitais π anti-ligantes do aminoácido trp, $n\pi^*(trp) \leftarrow d\pi(Fe^{2+})$ deslocadas para níveis de menor energia devido à protonação do nitrogênio N-heterocíclico do anel aromático [123–125], indicando a coordenação desta espécie. Após imersão na solução de quinoxalina, entretanto, a banda em 705 nm desaparece e surge uma banda em 545 nm atribuída à transição MLCT do íon Fe^{2+} para o ligante IQx, indicando a coordenação do ligante IQx ao centro metálico. Esse resultado sugere que o aminoácido triptofano se liga ao centro metálico, mas é substituído pelo composto quinoxalina quando este se encontra no meio. Esse comportamento se deve, possivelmente, à maior força de campo ligante do composto quinoxalina em relação ao aminoácido triptofano o que faz com que esta espécie não atue como interferente.

Para o aminoácido histidina (Figura 37.c), observa-se a formação de uma banda em 520 nm atribuída à transição do tipo MLCT de orbitais $d\pi$ do íon Fe^{2+} para orbitais π anti-ligantes do aminoácido his, $n\pi^*(his) \leftarrow d\pi(Fe^{2+})$ deslocada para níveis de menor energia devido à protonação do nitrogênio N-heterocíclico do anel aromático desta espécie [124,125]. Após a imersão da matriz híbrida na solução de quinoxalina, entretanto, não foi observada a formação da banda em 535 nm. Esse resultado sugere a coordenação irreversível do aminoácido histidina o que torna essa espécie um possível interferente à detecção de AAHs.

Estudos adicionais foram realizados em solução contendo os aminoácidos que experimentaram coordenação: triptofano e histidina. Assim, experimentos espectroscópicos foram realizados com soluções contendo $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de quinoxalina e histidina, além de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de triptofano para se avaliar o comportamento da matriz híbrida na presença das espécies coordenantes, além da molécula alvo. A Figura 38 ilustra os espectros de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis da matriz híbrida após diferentes tempos de imersão em solução contendo IQx, his e trp.

Figura 38 – Espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis da matriz híbrida após diferentes tempos de imersão em solução contendo $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de IQx e his, além de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de trp.



Fonte: Próprio autor.

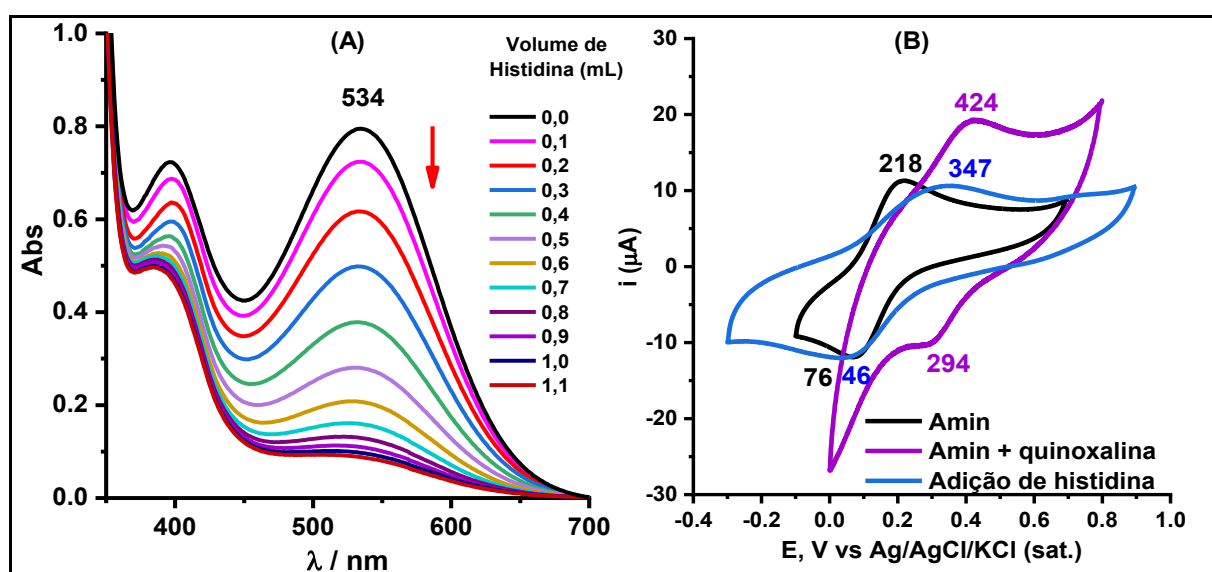
Os espectros apresentados na Figura 38, mostram uma banda de forte intensidade com máximo em 545 nm indicando a formação do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ após 30 s (espectro vermelho) em solução contendo o composto quinoxalina e os aminoácidos histidina e triptofano. A intensidade dessa banda aumenta até 60 s de imersão (espectro azul) quando, então, começa a decair até o desaparecimento após 330 s (espectro verde). Observa-se, após 150 s de imersão, o surgimento de uma banda em $\sim 520 \text{ nm}$, indicando a coordenação do aminoácido histidina (Figura 37.c). Esse resultado indica que a detecção de quinoxalina (e, possivelmente, de outras espécies HAAs) deve ser realizada considerando um tempo máximo de exposição da matriz híbrida de 120 s a fim de evitar erros oriundos de interferência pelos aminoácidos his ou trp.

Devido à capacidade de coordenação mais forte do aminoácido his, foram realizados, além de experimentos espectroscópicos, medidas eletroquímicas em soluções de 10 mL contendo o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$, sendo feita uma

titulação com uma solução 0,021 mol L⁻¹ de histidina a fim de observar as mudanças nos espectros de absorção eletrônica e voltamogramas cíclicos.

Na Figura 39.a tem-se os espectros eletrônicos UV-Vis em solução aquosa (1x10⁻³ mol L⁻¹) pH 6,50 do íon complexo [Fe(CN)₅(IQx)]³⁻ durante titulação com uma solução 0,021 mol L⁻¹ de histidina, sendo feitas adições de 0,10 mL. Na Figura 39.b tem-se os voltamogramas cíclicos obtidos para os íons complexos [Fe(CN)₅(OH₂)]³⁻ (—), [Fe(CN)₅(IQx)]³⁻ (—) antes e após (—) adição de histidina à solução.

Figura 39 – (A) Espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis em solução aquosa contendo o íon complexo [Fe(CN)₅(IQx)]³⁻ (1x10⁻³ mol L⁻¹) em função da adição de diferentes volumes de uma solução 0,021 mol L⁻¹ de histidina, (B) voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo em solução de NaTFA 0,10 mol L⁻¹ (pH 6,50) contendo [Fe(CN)₅(OH₂)]³⁻ (—), [Fe(CN)₅(IQx)]³⁻ (—) antes e após (—) a adição de histidina.



Fonte: Próprio autor.

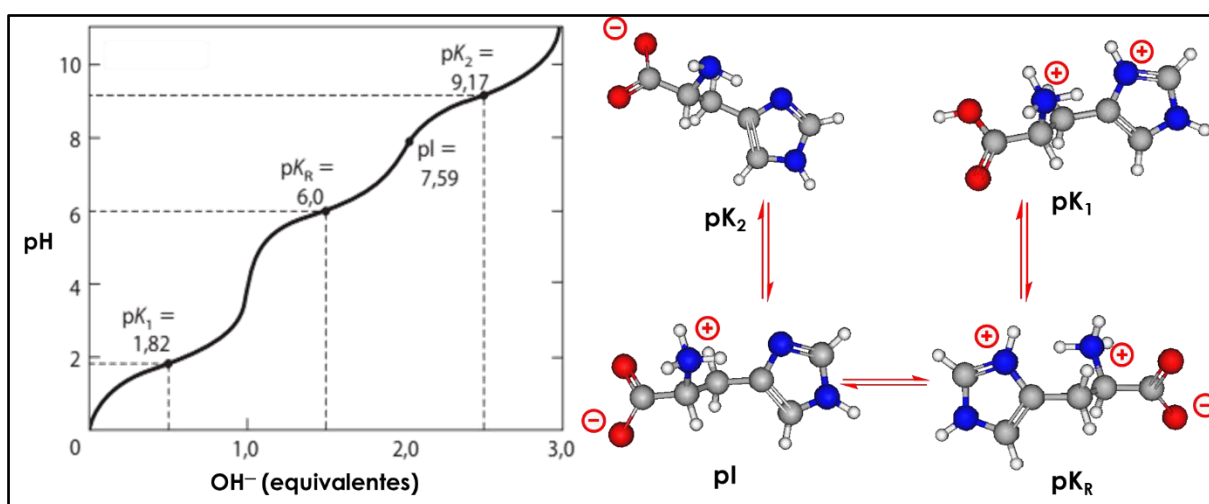
Os espectros apresentados na Figura 39.A mostram comportamento semelhante àqueles ilustrados na Figura 38, demonstrando que o aminoácido his é capaz de descoordenar o ligante IQx tanto em meio aquoso quanto na superfície da matriz híbrida. Observa-se o início do decaimento da banda em 534 nm, característica do íon complexo [Fe(CN)₅(IQx)]³⁻, logo nas primeiras adições do aminoácido his indicando que mesmo em concentrações menores de 2,08x10⁻⁴ mol L⁻¹ (considerando o volume final de 10,1 mL após a adição de 0,10 mL da solução 0,021 mol L⁻¹ do aminoácido his e 1x10⁻³ mol L⁻¹ a concentração do íon complexo [Fe(CN)₅(IQx)]³⁻)

existe maior afinidade pelo ligante histidina. Após a adição de 0,50 mL (concentração $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do aminoácido his com volume final de 10,5 mL) observa-se menores diminuições da intensidade da banda em 534 nm, sendo estabelecido um equilíbrio após 0,80 mL quando a concentração de histidina supera a do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$, indicando total substituição do ligante IQx devido à formação da banda em $\sim 520 \text{ nm}$ como também foi observado nos espectros da Figura 38.

A partir dos voltamogramas ilustrados na Figura 39.b, é possível observar que os valores de potenciais de meia onda atribuídos aos íons complexos $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ ($E_{1/2} = 147 \text{ mV}$) e $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{IQx})]^{3-}$ ($E_{1/2} = 359 \text{ mV}$), experimentam deslocamento para 196,5 mV vs Ag/AgCl (curva azul) após adição de histidina ao meio eletrolítico.

A histidina apresenta um anel aromático com dois nitrogênios em que um deles é passível de coordenação, sendo esperado que o potencial de meia onda fosse maior do que 200 mV. Foi feito, portanto, um estudo com relação ao sítio de ligação utilizado pela histidina para se coordenar ao centro metálico. A Figura 40 traz as espécies de histidina presentes em equilíbrios em função do valor de pH da solução.

Figura 40 – Curva de pH vs pKs para os diferentes grupos existentes na molécula de histidina com imagens das espécies em equilíbrio nos diferentes valores de pH.

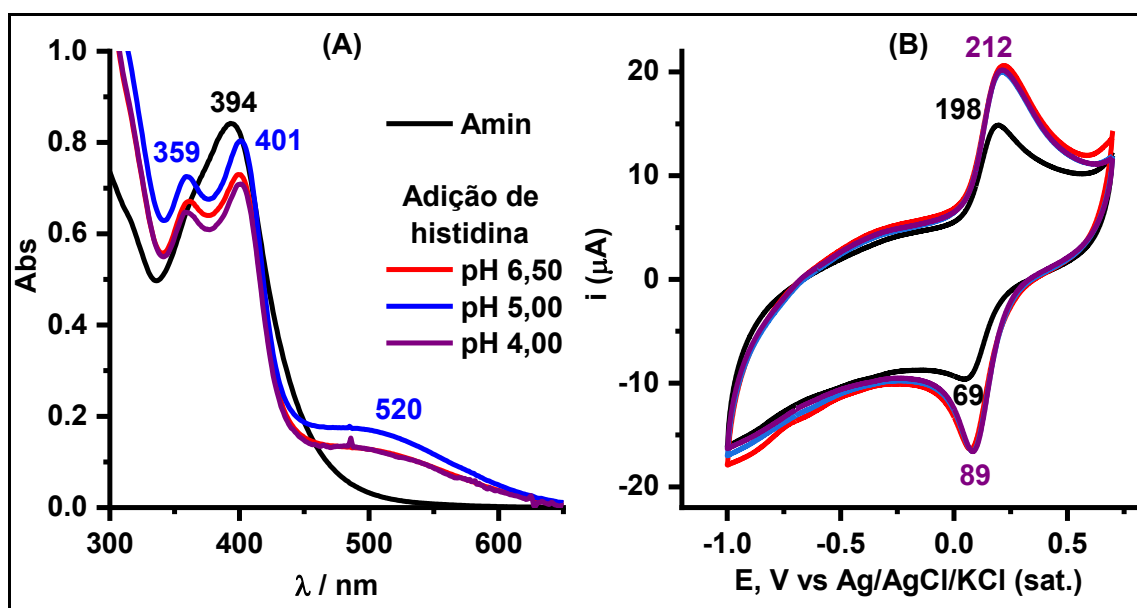


Fonte: Modificado [126].

A partir dos valores de pK apresentados para as protonações da molécula de histidina (Figura 40) conclui-se que, em pH 6,50, existe um equilíbrio entre as espécies com os átomos de nitrogênio desprotonado (pI) (passível de coordenação) e protonado (pK_R) (impossibilitado de coordenar). Essa observação sugere que a

coordenação do aminoácido his em pH 6,50 indicada através dos experimentos espectroscópicos e eletroquímicos ocorre, provavelmente, através de um dos átomos de oxigênio do grupo carboxílico. A fim de verificar essa hipótese, foram preparadas soluções ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) de 5,0 mL do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ em três valores de pH (6,5, 5,0 e 4,0) sendo adicionado excesso de histidina ($\sim 1,0 \text{ mg}$) às soluções. A Figura 41 ilustra os espectros de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis para essa espécie em soluções de diferentes valores de pH. O íon complexo não foi isolado, tendo sido feitos estudos apenas em solução.

Figura 41 – (A) Espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ em solução de NaTFA $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH com ($1,30 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) antes (curva preta —) e após (curvas azul —, vermelha — e roxo escuro —) adição de histidina, (B) voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo em solução de NaTFA $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ das mesmas soluções.



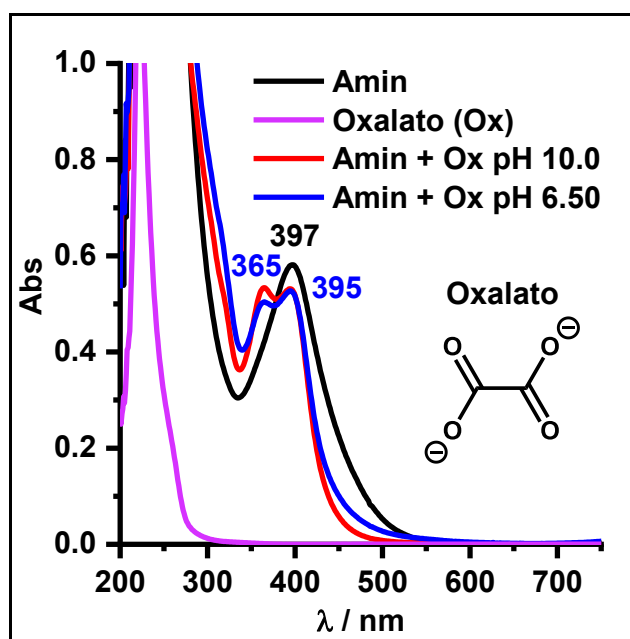
Fonte: Próprio autor.

Na Figura 41.a tem-se os espectros de absorção eletrônica nas regiões UV-Vis do complexo formado a partir do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ e do ligante histidina e seus voltamogramas cíclicos (Figura 41.b). Pode-se observar nos espectros eletrônicos a formação de bandas em 520 e 359 nm atribuídas às transições MLCT de orbitais $d\pi$ do íon Fe^{2+} para orbitais π anti-ligantes do aminoácido his, $n\pi^*(\text{his}) \leftarrow d\pi(\text{Fe}^{2+})$ [124]. A banda em 401 nm é atribuída à transição d-d, indicando a coordenação da histidina ao centro metálico [125,127,128]. As transições d-d podem sofrer variações de energia com a mudança do ligante coordenado ao centro metálico.

A concentração relativamente mais elevada ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) empregada para a obtenção dos espectros desloca o equilíbrio da Equação 4 no sentido de formação do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3-}$ e deslocando a banda d-d de 438 nm (Figura 15.a) para 394 nm. Após coordenação da histidina, essa banda experimenta outro deslocamento para 401 nm [127]. As alterações espectrais observadas em pH 6,5 e mantidas em soluções mais ácidas, reforçam a hipótese de coordenação via átomo de oxigênio do grupo carboxílico do aminoácido [129,130]. O valor de potencial de $E_{1/2}$ (150,5 mV) do par redox $\text{Fe}^{\text{III/II}}$ corrobora essa conclusão, uma vez que a coordenação a átomos de N em sistemas N-heterocíclicos, geralmente, desloca esse parâmetro para regiões mais positivas (cerca de 100 mV) de potencial em relação ao valor do complexo precursor [94,123,127,131].

Objetivando avaliar a hipótese de coordenação ao átomo de oxigênio, foram preparadas soluções ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ em diferentes valores de pH (10,0 e 6,5) contendo o íon oxalato em excesso ($\sim 1,0 \text{ mg}$ em 5 mL), visto que os únicos átomos disponíveis para coordenação neste composto são os átomos de oxigênio (*vide* estrutura na Figura 42). A Figura 42 ilustra os espectros de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis obtidos em soluções de diferentes valores de pH contendo o íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ antes e após a adição de oxalato.

Figura 42 - Espectros eletrônicos nas regiões do UV-Vis do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ em solução de NaTFA $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de diferentes valores de pH antes (curva preta —) e após adição de oxalato (curvas magenta —, vermelha — e azul —).



Fonte: Próprio autor.

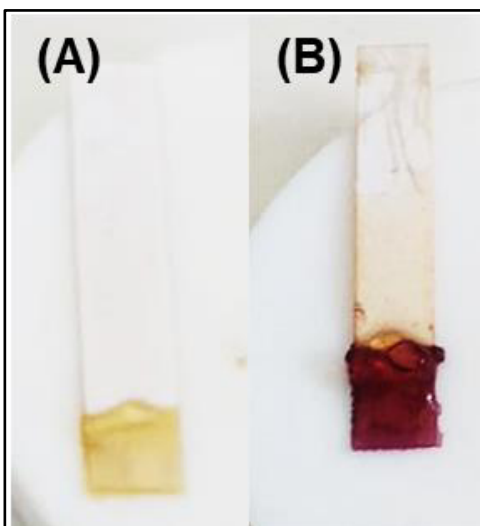
Observa-se, a partir dos espectros ilustrados na Figura 42, a formação de duas bandas com máximos em 365 e 395 nm próximas, portanto, àquelas observadas em 359 e 401 nm na Figura 41.a, sendo mais um indício de que a coordenação do aminoácido his ocorre através do grupo carboxilato.

Apesar do aminoácido histidina ter sido classificado como interferente, esta espécie é constituinte da estrutura de proteínas presentes em carnes sendo raramente detectada na forma livre em solução [132–134]. Esse aspecto sugere que o aminoácido his pode não representar problema para o desenvolvimento de um sensor colorimétrico com base no sistema em estudo.

4.2.4 Produção dos strips de papel

Os *strips* de papel com as matrizes híbridas foram produzidos conforme descrito na seção 3.3. A Figura 43 ilustra as alterações de coloração após imersão em solução $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de IQx.

Figura 43 – *Strips* de papel produzidos com os filmes modificados antes (A) e após (B) imersão em solução de IQx.



Fonte: Próprio autor.

As matrizes apresentaram boa aderência ao papel, permanecendo sobre este mesmo após 10 minutos de imersão em água. Após imersão em solução de IQx, observou-se a mudança de coloração para o roxo (Figura 43.b) indicando a possibilidade de utilização desse material para a detecção visual de HAAs.

5 CONCLUSÕES

Este trabalho apresentou os resultados obtidos para uma matriz híbrida produzida a partir da imobilização do íon complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ (porção inorgânica) sobre um filme de quitosana (porção orgânica). O processo de imobilização do composto de coordenação se deu através da adsorção possibilitada pelas interações eletrostáticas entre os grupos positivamente carregados do filme de quitosana e dos ligantes CN^- . Os resultados de espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões do UV-Vis do filme de quitosana constataram bandas associadas às transições de transferência de carga (~ 230 nm) e de campo ligante (400 nm) do íon complexo. O monitoramento espectroscópico do processo de adsorção mostrou que 30 minutos de imersão do filme de quitosana em solução aquosa de 2×10^{-4} mol L^{-1} do íon complexo é suficiente para saturação do mesmo a 25 °C. O processo inverso não é significativo, pois representa 4,87% do valor total adsorvido mesmo após 50 minutos de imersão em solução aquosa. A quantidade de $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$ adsorvida de $55,73 \pm 2,23$ $\mu\text{mol g}^{-1}$ a 25 °C foi determinada através das técnicas de espectroscopia de absorção atômica e da curva de calibração preparada no comprimento de onda máximo em 230 nm.

As micrografias da microscopia eletrônica de varredura em conjunto dos valores de ângulo de contato mostraram o incremento da resistência dos filmes de quitosana no decorrer dos tratamentos realizados com o armazenamento em etanol e imersão em solução de NaOH pH 11 (1×10^{-3} mol L^{-1}). Assim, foram obtidos filmes capazes de adsorver o íon complexo sem perda das propriedades mecânicas (resistência e flexibilidade) devido à imersão em água, haja vista que a absorção de moléculas de água foi bastante reduzida. O ângulo de contato, após adsorção do $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{OH}_2)]^{3-}$, foi de $81,1^\circ \pm 3,22^\circ$.

A detecção da molécula de prova em solução aquosa foi monitorada pela banda de transferência de carga do tipo MLCT (536 nm) característica da coordenação do ligante IQx. O tempo necessário para essa detecção foi de 10 minutos. Para o caso do uso em amostras de hambúrguer dopadas, observou-se a formação da banda de transferência de carga em 555 nm, tanto na fase aquosa quanto na orgânica (acetato de etila), havendo a mesma mudança de coloração. Isso reforça o potencial da utilização da matriz híbrida como sensor colorimétrico.

REFERÊNCIAS

- 1 BAER-DUBOWSKA, W.; BARTOSZEK, A.; AMALEJKA-GIGANTI, D. **Carcinogenic and Anticarcinogenic Food Components**. 1. ed. Boca Raton: Baer-Dubowska, Wanda, 2005.
- 2 WIDMARK, E. M. P. Presence of Cancer-producing Substances in Roasted Food. **Nature**, v. 143, n. 3632, p. 984, 1939.
- 3 SKOG, K. *et al.* Analysis of nonpolar heterocyclic amines in cooked foods and meat extracts using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 803, n. 1–2, p. 227–233, 1998.
- 4 TURESKY, R. J.; LE MARCHAND, L. Metabolism and biomarkers of heterocyclic aromatic amines in molecular epidemiology studies: Lessons learned from aromatic amines. **Chemical Research in Toxicology**, v. 24, n. 8, p. 1169–1214, 2011.
- 5 TURESKY, R. J. *et al.* Caffeine Cytochrome P450 1A2 Metabolic Phenotype Does Not Predict the Metabolism of Heterocyclic Aromatic Amines in Humans. **Chemical Research in Toxicology**, v. 28, n. 8, p. 1603–1615, 2015.
- 6 HÖLZL-ARMSTRONG, L. *et al.* Mutagenicity of 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (N-OH-PhIP) in human TP53 knock-in (Hupki) mouse embryo fibroblasts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 147, n. November 2020, p. 111855, jan. 2021.
- 7 KIM, S. *et al.* Colon Cancer Risk of a Westernized Diet Is Reduced in Mice by Feeding Cruciferous or Apiaceous Vegetables at a Lower Dose of Carcinogen but Not a Higher Dose. **Journal of Cancer Prevention**, v. 25, n. 4, p. 223–233, 2020.
- 8 RENDIC, S. P.; GUENGERICH, F. P. Human Family 1–4 cytochrome P450 enzymes involved in the metabolic activation of xenobiotic and physiological chemicals: an update. **Archives of Toxicology**, v. 95, n. 2, p. 395–472, 2021.
- 9 AKHTAR, S. *et al.* Ex vivo/in vitro protective effect of myricetin bulk and nano-forms on PhIP-induced DNA damage in lymphocytes from healthy individuals and pre-cancerous MGUS patients. **Archives of Toxicology**, v. 94, n. 7, p. 2349–2357, 2020.
- 10 JÄGERSTAD, M. *et al.* Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic amines identified in model systems and cooked foods. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, v. 207, n. 6, p. 419–427, 1998.

- 11 ALAEJOS, M. S.; AFONSO, A. M. Factors That Affect the Content of Heterocyclic Aromatic Amines in Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 2, p. 52–108, 2011.
- 12 GIBIS, M. Heterocyclic Aromatic Amines in Cooked Meat Products: Causes, Formation, Occurrence, and Risk Assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 2, p. 269–302, 2016.
- 13 RITCHIE, H.; ROSER, M. **Meat and Dairy Production**. Disponível em: <https://ourworldindata.org/meat-production>. Acesso em: 15 abr. 2020.
- 14 **CLARIVATE ANALYTICS. Web of Science. Fortaleza, 2021**. Disponível em: http://apps-webofknowledge.ez11.periodicos.capes.gov.br/CitationReport.do?action=home&product=UA&search_mode=CitationReport&cr_pqid=8&qid=8&isCRHidden=&SID=7Ej4C25X2JhWm1b2pZL. Acesso em: 3 mar. 2021.
- 15 DIVISION, H. & U. P. **Population, 1800-2019 (China)**. Disponível em: <https://ourworldindata.org/grapher/population?country=~CHN>.
- 16 DIVISION, H. & U. P. **Population, 1800-2019 (Brazil)**. Disponível em: <https://ourworldindata.org/grapher/population?country=~BRA>.
- 17 MEURILLON, M.; RATEL, J.; ENGEL, E. How to secure the meat chain against toxicants? **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 46, n. October 2017, p. 74–82, 2018.
- 18 SAKITA, J. Y. *et al.* A critical discussion on diet, genomic mutations and repair mechanisms in colon carcinogenesis. **Toxicology Letters**, v. 265, p. 106–116, 2017.
- 19 DONG, H. *et al.* Analysis of heterocyclic aromatic amine profiles in Chinese traditional bacon and sausage based on ultrahigh-performance liquid chromatography–quadrupole-Orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC–Q-Orbitrap-HRMS). **Food Chemistry**, v. 310, n. 24, p. 125937, abr. 2020.
- 20 SONTAG, G. *et al.* Analysis of Food by High Performance Liquid Chromatography Coupled with Coulometric Detection and Related Techniques: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 15, p. 4113–4144, 2019.
- 21 BARZEGAR, F.; KAMANKESH, M.; MOHAMMADI, A. Heterocyclic aromatic amines in cooked food: A review on formation, health risk-toxicology and their analytical techniques. **Food Chemistry**, v. 280, n. August 2018, p. 240–254, maio 2019.
- 22 MARTINEZ, A. W. *et al.* Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 46, n. 8, p. 1318–1320, 2007.

- 23 JANNUZZI, S. A. V. *et al.* Supramolecular interactions between inorganic and organic blocks of pentacyanoferrate/poly(4-vinylpyridine) hybrid metallopolymer. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 51, p. 14933–14942, 2012.
- 24 BRATSKAYA, S. Y. *et al.* Pentacyanoferrate(II) complexes with chitosan. **Polymer Engineering & Science**, v. 54, n. 10, p. 2392–2397, out. 2014.
- 25 TRIPATHY, S. P.; SUBUDHI, S.; PARIDA, K. Inter-MOF hybrid (IMOFH): A concise analysis on emerging core–shell based hierarchical and multifunctional nanoporous materials. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 434, p. 213786, maio 2021.
- 26 RAI, V. *et al.* A Review on Recent Advances in Electrochromic Devices: A Material Approach. **Advanced Engineering Materials**, v. 22, n. 8, p. 1–23, 2020.
- 27 BRATSKAYA, S. Y. *et al.* Cesium uptake by pentacyanoferrate(II) complexes with O-containing derivatives of chitosan. **Separation Science and Technology (Philadelphia)**, v. 51, n. 4, p. 594–600, 2016.
- 28 CAO, S. *et al.* What factors reduce carrier mobility of organic-inorganic hybrid perovskite for (BA)₂MAGe₂I₇ and (BA)₂MASn₂I₇? **Applied Surface Science**, v. 546, n. January, 2021.
- 29 KOH, E.; LEE, Y. T. Hybrid nanocomposites of a molybdenum disulfide (MoS₂) based hydrophobic filler for a robust self-cleaning effect. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 96, p. 294–306, 2021.
- 30 OH, H. *et al.* Highly flexible and stable perovskite/microbead hybrid photodetectors with improved interfacial light trapping. **Applied Surface Science**, v. 544, n. October 2020, 2021.
- 31 NOVIKOV, I. V. *et al.* Green approach for fabrication of bacterial cellulose-chitosan composites in the solutions of carbonic acid under high pressure CO₂. **Carbohydrate Polymers**, v. 258, n. August 2020, 2021.
- 32 YAN, W. *et al.* Interpenetrating polymer network hydrogels of soy protein isolate and sugar beet pectin as a potential carrier for probiotics. **Food Hydrocolloids**, v. 113, n. November 2020, 2021.
- 33 ANANDHA KUMAR, S. *et al.* Guar gum-stabilized soil: a clean, sustainable and economic alternative liner material for landfills. **Clean Technologies and Environmental Policy**, n. 0123456789, 2021.
- 34 KIM, J.; YUN, S.; OUNAIES, Z. Discovery of cellulose as a smart material. **Macromolecules**, v. 39, n. 12, p. 4202–4206, 2006.
- 35 KHAN, A.; KHAN, F. R.; KIM, H. S. Electro-active paper as a flexible mechanical sensor, actuator and energy harvesting transducer: A review. **Sensors (Switzerland)**, v. 18, n. 10, 2018.

- 36 KIM, J.-H.; LEE, D.; LEE, S.-Y. Lignocellulosics as a Green Material Opportunity for Energy Storage Systems. In: **Lignocellulosics**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 297–343.
- 37 KHAN, S. M.; NASSAR, J. M.; HUSSAIN, M. M. Paper as a Substrate and an Active Material in Paper Electronics. **ACS Applied Electronic Materials**, 2020.
- 38 WEI, J. *et al.* A multicomponent interconnected composite paper for triple-mode sensors and flexible micro-supercapacitors. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 8, n. 46, p. 24620–24634, 2020.
- 39 OWOYOKUN, T. *et al.* Cellulose nanocrystals: Obtaining and sources of a promising bionanomaterial for advanced applications. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 11797–11816, 2021.
- 40 LANZALACO, S.; MOLINA, B. G. Polymers and Plastics Modified Electrodes for Biosensors: A Review. **Molecules**, v. 25, n. 10, p. 2446, 24 maio 2020.
- 41 LAKARD, B. Electrochemical biosensors based on conducting polymers: A review. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 10, n. 18, 2020.
- 42 LUONG, J. H. T. *et al.* Recent advances of conducting polymers and their composites forelectrochemical biosensing applications. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 11, n. 4, 2020.
- 43 TAJIK, S. *et al.* Recent developments in conducting polymers: Applications for electrochemistry. **RSC Advances**, v. 10, n. 62, p. 37834–37856, 2020.
- 44 KAZEMI, F. *et al.* Biosensing Applications of Polyaniline (PANI)-Based Nanocomposites: A Review. **Polymer Reviews**, 2020.
- 45 GU, H. *et al.* New Functions of Polyaniline. **ES Materials & Manufacturing**, 2018.
- 46 DHAWAN, S. K.; SINGH, N.; VENKATACHALAM, S. Shielding effectiveness of conducting polyaniline coated fabrics at 101 GHz. **Synthetic Metals**, v. 125, n. 3, p. 389–393, dez. 2001.
- 47 BHADRA, S. *et al.* **Progress in preparation, processing and applications of polyaniline** **Progress in Polymer Science (Oxford)**, ago. 2009.
Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670009000355>
- 48 ZARE, E. N. *et al.* **Progress in Conductive Polyaniline-Based Nanocomposites for Biomedical Applications: A Review** **Journal of Medicinal Chemistry**, 9 jan. 2020. Disponível em:
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jmedchem.9b00803>

- 49 YASSIN, M. A. *et al.* Exfoliated nanosheets of Co₃O₄ webbed with polyaniline nanofibers: A novel composite electrode material for enzymeless glucose sensing application. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 73, p. 106–117, maio 2019.
- 50 LU, Q. *et al.* Magnetic Polymer Composite Particles: Design and Magnetorheology. **Polymers**, v. 13, n. 4, p. 512, 2021.
- 51 HU, H. *et al.* pH and Electromagnetic Dual-Remoted Drug Delivery Based on Bimodal Superparamagnetic Fe₃O₄@Porous Silica Nanoparticles. **Engineered Science**, 2018.
- 52 BAHADUR, A. *et al.* Electrochemical study of specially designed graphene-Fe₃O₄-polyaniline nanocomposite as a high-performance anode for lithium-ion battery. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 42, p. 15031–15037, 2018.
- 53 ZHOU, Q. *et al.* Fabrication and characterisation of magnetic graphene oxide incorporated Fe₃O₄@polyaniline for the removal of bisphenol A, t-octyl-phenol, and α -naphthol from water. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 11316, 12 dez. 2017.
- 54 GAUTAM, V. *et al.* Preparation and characterization of polyaniline, multiwall carbon nanotubes, and starch bionanocomposite material for potential bioanalytical applications. **Polymer Composites**, v. 38, n. 3, p. 496–506, 2017.
- 55 FAFENROT, S. *et al.* Three-dimensional (3D) printing of polymer-metal hybrid materials by fused deposition modeling. **Materials**, v. 10, n. 10, 2017.
- 56 EL KNIDRI, H. *et al.* Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181–1189, dez. 2018.
- 57 MASYKUR, A. *et al.* Syntheses of Chitosan Macropore and Application as Procion Red Dyes Adsorbent. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1028, n. 1, 2018.
- 58 HAROUN, A. A.; ABDELGHAFAR, F.; HAKEIM, O. A. Preparation of chitosan/hyperbranched polyester/cobalt composite for acid blue 277 dye adsorption. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 11653–11665, 2021.
- 59 TIPLEA, R. E. *et al.* Antimicrobial films based on chitosan, collagen, and ZnO for skin tissue regeneration. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 11985–11995, 2021.
- 60 MALLICK, S. P. *et al.* Chitosan oligosaccharide based hydrogel: An insight into the mechanical, drug delivery, and antimicrobial studies. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 10293–10300, 2021.

- 61 HOU, X. *et al.* Construction of an electrochemical sensor with graphene aerogel doped with ZrO₂ nanoparticles and chitosan for the selective detection of luteolin. **Microchimica Acta**, v. 188, n. 3, 2021.
- 62 SUGINTA, W.; KHUNKAEWLA, P.; SCHULTE, A. Electrochemical biosensor applications of polysaccharides chitin and chitosan. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 7, p. 5458–5479, 2013.
- 63 LUGOVITSKAYA, T. N.; ZUDINA, I. V.; SHIPOVSKAYA, A. B. Obtaining and Properties of L-Aspartic Acid Solutions of Chitosan. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 80–88, 2020.
- 64 ZHANG, H. *et al.* Mechanism of carboxymethyl chitosan hybrid montmorillonite and adsorption of Pb(II) and Congo red by CMC-MMT organic-inorganic hybrid composite. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 1161–1169, 2020.
- 65 EL-ZAWAHRY, M. M. *et al.* Preparation and use of aqueous solutions magnetic chitosan / nanocellulose aerogels for the sorption of reactive black 5. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 12380–12402, 2021.
- 66 LI, M. *et al.* The hollow core-shell ferric oxide entrapped chitosan microcapsules as phosphate binders for phosphorus removal in vitro. **Carbohydrate Polymers**, v. 257, n. July 2020, 2021.
- 67 LIAKOS, E. V. *et al.* On the combination of modern sorbents with cost analysis: A review. **Journal of Molecular Structure**, v. 1229, 2021.
- 68 NISTICÒ, R. *et al.* Sustainable magnetic materials (From chitosan and municipal biowaste) for the removal of diclofenac from water. **Nanomaterials**, v. 9, n. 8, 2019.
- 69 FARINELLI, G. *et al.* Fe-chitosan complexes for oxidative degradation of emerging contaminants in water: Structure, activity, and reaction mechanism. **Journal of Hazardous Materials**, v. 408, 2020.
- 70 ALI KHAN, S. *et al.* Synthesis of zero-valent Au nanoparticles on chitosan coated NiAl layered double hydroxide microspheres for the discoloration of dyes in aqueous medium. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 250, 2021.
- 71 VIGNESHWARAN, S. *et al.* Immobilization of MIL-88(Fe) anchored TiO₂-chitosan(2D/2D) hybrid nanocomposite for the degradation of organophosphate pesticide: Characterization, mechanism and degradation intermediates. **Journal of Hazardous Materials**, v. 406, n. September 2020, 2021.
- 72 SANTOS, L. R. L.; MARINO, C. E. B.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C. Silica/chitosan hybrid particles for smart release of the corrosion inhibitor

- benzotriazole. **European Polymer Journal**, v. 115, n. January, p. 86–98, 2019.
- 73 ABDALLAH, M.; FAWZY, A.; HAWSAWI, H. Maltodextrin and chitosan polymers as inhibitors for the corrosion of carbon steel in 1.0 M hydrochloric acid. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 15, p. 5650–5663, 2020.
- 74 ZHAO, Q. *et al.* Chitosan derivatives as green corrosion inhibitors for P110 steel in a carbon dioxide environment. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 194, n. May, 2020.
- 75 CHAUHAN, D. S. *et al.* Triazole-modified chitosan: A biomacromolecule as a new environmentally benign corrosion inhibitor for carbon steel in a hydrochloric acid solution. **RSC Advances**, v. 9, n. 26, p. 14990–15003, 2019.
- 76 DA SILVA, M. A. S. *et al.* Chitosan Film Containing an Iron Complex: Synthesis and Prospects for Heterocyclic Aromatic Amines (HAAs) Recognition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 7, p. 1387–1394, 2017.
- 77 HUANG, T. W. *et al.* A smart and active film with tunable drug release and color change abilities for detection and inhibition of bacterial growth. **Materials Science and Engineering C**, v. 118, n. June 2020, 2021.
- 78 DO, M. H. *et al.* Chitosan-based nanocomposites for glyphosate detection using surface plasmon resonance sensor. **Sensors (Switzerland)**, v. 20, n. 20, p. 1–19, 2020.
- 79 PANDEY, G. *et al.* Chitosan-ylated MoO(3)-Ruthenium(II) Nanocomposite as Biocompatible Probe for Bioimaging and Herbaceutical Detection. **ACS biomaterials science & engineering**, v. 5, n. 7, p. 3606–3617, jul. 2019.
- 80 EREMINA, O. E. *et al.* Silver-chitosan nanocomposite as a plasmonic platform for SERS sensing of polyaromatic sulfur heterocycles in oil fuel. **Nanotechnology**, v. 31, n. 22, 2020.
- 81 WU, S. *et al.* Synthesis of imprinted chitosan/AuNPs/graphene-coated MWCNTs/Nafion film for detection of lead ions. **New Journal of Chemistry**, v. 44, n. 33, p. 14129–14135, 2020.
- 82 MIESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. **Química inorgânica básica**. 5ª ed. São Paulo: Pearson Education Limited, 2014.
- 83 HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Inorganic Chemistry - Fourth Edition - Volume 2**. 4ª ed. [s.l.] Pearson Education Limited, 2013.
- 84 SHRIVER, D. F. *et al.* **Inorganic Chemistry, Fourth Edition**. 4ª ed. [s.l.] Oxford University Press, 2006.

- 85 TOMA, H. E. **Cianoferratos: correlação de estrutura, reatividade e intervalência**. 25 jun. 2008. Universidade de São Paulo. 25 jun. 2008.
- 86 TABACARU, A.; COLOMBO, V.; APETREI, C. Development of Sensor Based on Copper(II) Thiocyanate Pyridine Polymeric Complex for Detection of Catechol. **IEEE Sensors Journal**, v. 19, n. 22, p. 10198–10206, 2019.
- 87 KANAZAWA, K. *et al.* Red luminescence control of Eu(III) complexes by utilizing the multi-colored electrochromism of viologen derivatives. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 19, n. 26, p. 16979–16988, 2017.
- 88 SU, Y. *et al.* Bonded-luminescent foam based on europium complexes as a reversible copper (II) ions sensor in pure water. **European Polymer Journal**, v. 112, n. October 2018, p. 461–465, 2019.
- 89 PONRAM, M. *et al.* Inkjet-printed phosphorescent Iridium(III) complex based paper sensor for highly selective detection of Hg²⁺. **Dyes and Pigments**, v. 163, n. November 2018, p. 176–182, 2019.
- 90 ZHANG, K. *et al.* Luminescent Sm(III) complex bearing dynamic imine bonds as a multi-responsive fluorescent sensor for F⁻ and PO₄³⁻ anions together with Zn²⁺ cation in water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 1118, p. 52–62, 2020.
- 91 CUI, F. *et al.* A colorimetric chemosensor for pyrophosphate based on mono-pyrenylurea in aqueous media. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 241, p. 118658, 2020.
- 92 ALSHAMMARI, A. H. *et al.* Low cost, high sensitivity detection of waterborne Al³⁺ cations and F⁻ anions via the fluorescence response of a morin derivative dye. **Analytica Chimica Acta**, v. 1105, p. 1–10, 2020.
- 93 BRAUER, G. (ED.). **Handbook of Preparative Inorganic Chemistry**. 2^a ed. New York: Academic Press, 1963.
- 94 COELHO, A. L.; TOMA, H. E.; MALIN, J. M. Pentacyanoferrate (II) Complexes of Pyrimidine and Quinoxaline. **Inorganic Chemistry**, v. 22, n. 19, p. 2703–2707, 1983.
- 95 TOMA, H. E.; MALIN, J. M. Properties and Reactivity of Some Pentacyanoferrate(II) Complexes of Aromatic Nitrogen Heterocycles. **Inorganic Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 1039–1045, 1973.
- 96 HIRT, R. C.; KING, F. T.; CAVAGNOL, J. C. Observed $n \rightarrow \pi^*$ bands in the ultraviolet absorption solution spectra of the Di-aza-naphthalenes. **The Journal of Chemical Physics**, v. 25, n. 3, p. 574–576, 1956.
- 97 GOBEC, S.; URLEB, U. Product Class 15: Quinoxalines. **Category 2, Heteroarenes and Related Ring Systems**, 2013.

- 98 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2^a edição ed. New York: Wiley, 2001. v. 1
- 99 TOMA, H. E.; MALIN, J. M. Kinetics of Formation and Stability Constants of Some Pentacyanoferrate(II) Complexes of Aromatic Nitrogen Heterocycles. **Inorganic Chemistry**, v. 12, n. 9, p. 2080–2083, 1973.
- 100 CHEAH CHIE, S.; AB WAHAB, M. K. Morphology and biodegradability of microcrystalline cellulose / chitosan films. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 701, n. 1, 2019.
- 101 SUKHANOVA, A. A. *et al.* Poly-3-hydroxybutyrate/chitosan composite films and nonwoven mats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 2947–2956, 2020.
- 102 JIAN, S. H. *et al.* Analysis of heterocyclic amines in meat products by liquid chromatography – Tandem mass spectrometry. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 27, n. 2, p. 595–602, 2019.
- 103 KULCZYŃSKI, B.; SIDOR, A.; GRAMZA-MICHAŁOWSKA, A. Characteristics of Selected Antioxidative and Bioactive Compounds in Meat and Animal Origin Products. **Antioxidants**, v. 8, n. 9, p. 335, 22 ago. 2019.
- 104 YALKOWSKY, S.; DANNENFELSER, R. **DrugBank - “Tryptophan”**. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00150>.
- 105 HE, Q. *et al.* Preparation of chitosan films using different neutralizing solutions to improve endothelial cell compatibility. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 22, n. 12, p. 2791–2802, 2011.
- 106 RUPAR, J. *et al.* Comparative electrochemical studies of kinetic and thermodynamic parameters of Quinoxaline and Brimonidine redox process. **Electrochimica Acta**, v. 271, p. 220–231, 2018.
- 107 DOTTO, G. L. *et al.* Application of chitosan films for the removal of food dyes from aqueous solutions by adsorption. **Chemical Engineering Journal**, v. 214, p. 8–16, 2013.
- 108 AKINPELU, A. A. *et al.* Adsorption studies of volatile organic compound (Naphthalene) from aqueous effluents: Chemical activation process using weak lewis acid, equilibrium kinetics and isotherm modelling. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1–19, 2021.
- 109 KUMAR, R.; SHARMA, R. K.; SINGH, A. P. Cellulose based grafted biosorbents - Journey from lignocellulose biomass to toxic metal ions sorption applications - A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 232, p. 62–93, 2017.
- 110 AYAWEI, N.; EBELEGI, A. N.; WANKASI, D. Modelling and Interpretation of Adsorption Isotherms. **Journal of Chemistry**, v. 2017, 2017.

- 111 WU, K. H. *et al.* Modified expanded graphite/Fe₃O₄ composite as an adsorbent of methylene blue: Adsorption kinetics and isotherms. **Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology**, v. 266, n. January, p. 1–8, 2021.
- 112 LU, H.; WANG, W.; WANG, A. Ethanol-NaOH solidification method to intensify chitosan/poly(vinyl alcohol)/attapulgite composite film. **RSC Advances**, v. 5, n. 23, p. 17775–17781, 2015.
- 113 MIKHAILOV, G. P.; LAZAREV, V. V. Estimating the energy of intramolecular hydrogen bonds in chitosan oligomers. **Russian Journal of Physical Chemistry A**, v. 90, n. 7, p. 1367–1373, 2016.
- 114 BALAU, L. *et al.* Physico-chemical properties of Chitosan films. **Central European Journal of Chemistry**, v. 2, n. 4, p. 638–647, 2004.
- 115 CURTIS, K. E. Interferences in the determination of iron by atomic-absorption spectrophotometry in an air-acetylene flame. **The Analyst**, v. 94, n. 1125, p. 1068, 1969.
- 116 SHECHTMAN, O. The Coefficient of Variation as an Index of Measurement Reliability. In: DOI, S. A. R.; WILLIAMS, G. M. (Eds.). **Methods of Clinical Epidemiology**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 39–49.
- 117 BRATSKAYA, S. Y. *et al.* Pentacyanoferrate(II) complexes with N-containing derivatives of chitosan and polyallylamine: Synthesis and cesium uptake properties. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 460, n. April, p. 145–150, 2014.
- 118 VORONOV, R. S.; PAPAVALASSILIOU, D. V.; LEE, L. L. Review of fluid slip over superhydrophobic surfaces and its dependence on the contact angle. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 47, n. 8, p. 2455–2477, 2008.
- 119 YAN, A. *et al.* Controlling water contact angle on carbon surfaces from 5° to 167°. **Carbon**, v. 44, n. 14, p. 3116–3120, 2006.
- 120 FAJARDO, A. R. *et al.* Development and application of chitosan/poly(vinyl alcohol) films for removal and recovery of Pb(II). **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 253–260, 2012.
- 121 LIN, C. H. *et al.* Hydroxyapatite formation with the interface of chitin and chitosan. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 118, p. 294–300, 2021.
- 122 LEVER, A. B. P. **Inorganic Electronic Spectroscopy (Studies in Physical and Theoretical Chemistry)**. 2^a ed. New York: Elsevier Science; Subsequent edition, 1986. v. 33

- 123 TOMA, H. E.; BATISTA, A. A.; GRAY, H. B. Pentacyanoferrate(II) Complexes of Amino Acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 104, n. 26, p. 7509–7515, dez. 1982.
- 124 MACARTNEY, D. H.; WARRACK, L. J. Ligand substitution reactions of pentacyanoferrate(II) complexes with N-heterocyclic cations in aqueous solution. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 67, n. 11, p. 1774–1779, 1 nov. 1989.
- 125 FORMIGA, A. L. B.; VANCOILLIE, S.; PIERLOOT, K. Electronic spectra of N-heterocyclic pentacyanoferrate(II) complexes in different solvents, studied by multiconfigurational perturbation theory. **Inorganic Chemistry**, v. 52, n. 18, p. 10653–10663, 2013.
- 126 LEHNINGER, T. M.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6ª ed. São Paulo: Sarvier, 2014.
- 127 TOMA, H. E.; MARTINS, J. M.; GIESBRECHT, E. Kinetics of reaction of imidazole, glycine, and L-hcistidine with the aqua-pentacyanoferrate(II) ion. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, v. 2, n. 12, p. 1610–1617, 1978.
- 128 LUIZ, J. B. *et al.* 2-Mercaptobenzoxazole pentacyanoferrate(II/III) complexes: UV-Visible, mössbauer, electron paramagnetic resonance, electrochemistry and molecular modeling. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 1, p. 10–15, 2004.
- 129 IHA, N. Y. M. **Reatividade de ligantes na química dos cianoferratos**. 28 set. 1981. Universidade de São Paulo. 28 set. 1981.
- 130 FRIN, K. P. M. **Propriedades fotoquímicas de alguns complexos de ferro(II) e rênio(I)**. 17 maio 2016. 143 f. Universidade de São Paulo. 17 maio 2016.
- 131 FIGARD, J. E.; PETERSEN, J. D. Photochemistry of Pentacyanoferrate(II) Complexes Containing Aromatic Nitrogen Heterocyclic Ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 17, n. 4, p. 1059–1063, 1 abr. 1978.
- 132 KRALIK, G. *et al.* Effect of amino acids on growth performance, carcass characteristics, meat quality, and carnosine concentration in broiler chickens. **Journal of Poultry Science**, v. 55, n. 4, p. 239–248, 2018.
- 133 ABE, H.; OKUMA, E. Discrimination of Meat Species in Processed Meat Products Based on the Ratio of Histidine Dipeptides. **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, v. 42, n. 10, p. 827–834, 1995.
- 134 KRALIK, G. *et al.* Influence of Dietary Histidine, Hybrid Line and Gender on Chicken Meat Quality and Carnosine Concentration. **The Journal of Poultry Science**, v. 52, n. 4, p. 295–303, 2015.