

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**CAMILA GABRIELA CARRARA**

**POLI (ÁCIDO METACRÍLICO-CO-ETILENO GLICOL DIMETACRILATO) NA  
EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DISPERSIVA MAGNÉTICA DE  
ANTICONVULSIVANTES EM SALIVA SEGUIDO DE ANÁLISE POR HPLC**

**ALFENAS/MG**

**2025**

**CAMILA GABRIELA CARRARA**

**POLI (ÁCIDO METACRÍLICO-CO-ETILENO GLICOL DIMETACRILATO) NA  
EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DISPERSIVA MAGNÉTICA DE  
ANTICONVULSIVANTES EM SALIVA SEGUIDO DE ANÁLISE POR HPLC**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas. Linha de Pesquisa: Toxicologia e Análises Toxicológicas.

Orientadora: Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo.

**ALFENAS/MG**

**2025**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Carrara, Camila Gabriela .

Poli (ácido metacrílico-co-etileno glicol dimetacrilato) na extração em fase sólida dispersiva magnética de anticonvulsivantes em saliva seguido de análise por hplc / Camila Gabriela Carrara. - Alfenas, MG, 2025.

104 f. : il. -

Orientador(a): Eduardo Costa de Figueiredo.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. 2. Drogas Antiepiléticas. 3. Monitorização Terapêutica. 4. Nanomateriais. 5. Preparo de Amostra. I. de Figueiredo, Eduardo Costa, orient. II. Título.

**CAMILA GABRIELA CARRARA**

**"POLI (ÁCIDO METACRÍLICO-CO-ETILENO GLICOL DIMETACRILATO) NA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DISPERSIVA MAGNÉTICA DE ANTICONVULSIVANTES EM SALIVA SEGUIDO DE ANÁLISE POR HPLC"**

O(A) Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: em Ciências Farmacêuticas

Aprovada em: 25 de fevereiro de 2025.

Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo  
Presidente da Banca Examinadora  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Bruno Alves Rocha  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Dra. Mariana Azevedo Rosa  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Costa de Figueiredo, Vice-Coordenador do Programa de Pós-graduação Em Ciências Farmacêuticas**, em 28/02/2025, às 09:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1462197** e o código CRC **2C4A6808**.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus. Afinal, sem Ele, essa conquista não teria sido possível. Aos meus pais por todo apoio, suporte, amor e fé incondicional em mim. Agradeço toda a paciência e encorajamento de vocês. Agradeço muito por, assim como meu padrasto César, estarem de coração e braços abertos a me ajudarem. Vocês são a minha força e exemplo diário. Amo vocês!

Agradeço imensamente à minha irmã que tanto amo, que está sempre presente por mim. Obrigada por estar comigo em todos meus acertos e falhas. Você é essencial na minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo por ter me aceitado como orientada e ter confiado em mim. Obrigada Eduardo, por todo apoio, profissional e emocional. Você é uma pessoa e um profissional exemplo para todos nós.

À UNIFAL-MG, por me acolher desde a graduação e por ser a minha segunda casa. À Faculdade de Ciências Farmacêuticas e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de fazer parte.

Aos meus amigos do coração que estão sempre apoiando e acreditando em mim. Ao meu namorado Alan por toda paciência, compreensão e encorajamento, você me segurou em muitos momentos e tenho muito a agradecer. Aos meus familiares que rezaram, torceram, ajudaram e vibraram a cada conquista minha.

Aos colegas de trabalho do LATF que estiveram sempre dispostos a ajudar e tornar a nossa rotina mais leve e divertida. Com vocês aprendi muito e sempre me senti em casa. Em especial, às pessoas que me acompanharam e auxiliaram nos estudos desde o início Thalita, Mariana, Diailison, Lucas, Thaina, Ana Clara e Vanessa. Vocês são pessoas trabalhadoras e cheias de sonhos que me inspira a crescer também. Agradeço muito ao Diailison e à Mariana pelos trabalhos realizados para este projeto. Às técnicas do nosso LATF que sempre estiveram dispostas a dar apoio e auxiliar nas atividades, facilitando os trabalhos e compartilhando de bons momentos de convivência.

O presente trabalho foi realizado com apoio dos seguintes órgãos: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (Código de Financiamento 001), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa (FUNDEP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## RESUMO

Doenças neurológicas como a epilepsia são comumente tratadas com a administração de anticonvulsivantes e para o controle eficaz da doença, é essencial monitoramento da dose administrada desses medicamentos, em amostras biológicas. No entanto, compostos como macromoléculas presentes nessas matrizes podem interferir na análise cromatográfica. A saliva pode ser obtida de forma menos invasiva, é de fácil coleta com concentração de fármacos que pode ser correlacionado à fração sanguínea não ligada às proteínas, tornando-se uma amostra alternativa ao sangue. Portanto, o presente estudo empregou o material magnético poli (ácido metacrílico-co-etileno glicol dimetacrilato) (M-CP, do inglês magnetic copolymer) na extração em fase sólida dispersiva dos fármacos primidona, fenobarbital, fenitoína e carbamazepina em saliva humana, seguido de análise por cromatografia líquida de alta eficiência. O material foi obtido em 4 etapas: i) síntese das nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, ii) funcionalização das nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> com tetraetilortosilicato (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS), iii) modificação das nanopartículas em Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS@MPS e iv) síntese do M-CP. Para caracterização destes, foram realizadas as técnicas de FT-IR, MEV, potencial zeta e análise térmica. A otimização da extração foi realizada pelo delineamento composto central rotacional e as condições ótimas resultaram em pH 5,78; 12,8 mg de material; 2,18 mL de amostra. Os estudos de adsorção do M-CP indicaram que o modelo de Avrami como o melhor ajustado os dados de cinética, sendo o tempo de equilíbrio alcançado em aproximadamente 60 minutos. Para isoterma de adsorção o tempo foi fixado e o modelo de Jovanovic foi o melhor ajustado, sendo a capacidade máxima de adsorção do material de 10,96 mg g<sup>-1</sup>. O método desenvolvido e validado foi linear em uma faixa de 2 a 30 mg L<sup>-1</sup> para fenobarbital e primidona, e de 1 a 30 para fenitoína e carbamazepina (linearidade R<sup>2</sup> > 0,99), valores de precisão de 0,34% a 23,76% e exatidão de -13,37% a 14,81% foram obtidos. O limite de detecção variou de 0,48 a 1,30 mg L<sup>-1</sup>, enquanto o limite de quantificação se apresentou abaixo do nível terapêutico. O método desenvolvido é vantajoso e permite a determinação da concentração de analitos utilizando uma pequena quantidade de saliva e uma rápida técnica de extração.

Palavras-chave: cromatografia líquida de alta eficiência; drogas antiepiléticas; monitorização terapêutica; nanomateriais; preparo de amostra.

## ABSTRACT

Neurological diseases such as epilepsy are commonly treated with the administration of anticonvulsants, and for effective disease control, it is essential to monitor the administered dose of these drugs in biological samples. However, formulated as macromolecules, the present matrices may interfere with chromatographic analysis. Saliva can be obtained in a less invasive manner, is easy to collect, and has a drug concentration that can be correlated with the non-protein-bound blood fraction, making it an alternative sample to blood. Therefore, the present study used the magnetic material poly (methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethacrylate) (M-CP, from the English magnetic copolymer) in the dispersive solid-phase extraction of the drugs primidone, phenobarbital, phenytoin, and carbamazepine in human saliva, followed by analysis by high-performance liquid chromatography. The material was obtained in four steps: i) synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles, ii) functionalization of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles with tetraethylorthosilicate (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS), iii) modification of the nanoparticles in Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS@MPS and iv) descriptions of M-CP. For their characterization, FT-IR, SEM, zeta potential and thermal analysis techniques were performed. The optimization of the protection was performed by the central composite rotational design and the optimal conditions resulted in pH 5.78; 12.8 mg of material; 2.18 mL of sample. The adsorption studies of M-CP indicated that the Avrami model was the best adjusted to the kinetic data, with the equilibrium time achieved in approximately 60 minutes. For the adsorption isotherm, time was established and the Jovanovic model was the best adjusted, with a maximum adsorption capacity of 10.96 mg g<sup>-1</sup>. The developed and validated method was linear in a range of 2 to 30 mg L<sup>-1</sup> for phenobarbital and primidone, and from 1 to 30 for phenytoin and carbamazepine (linearity R<sup>2</sup> > 0.99), precision values of 0.34% to 23.76% and accuracy of -13.37% to 14.81% were obtained. The detection limit ranges from 0.48 to 1.30 mg L<sup>-1</sup>, while the quantification limit is below the therapeutic level. The developed method is advantageous and allows the determination of analyte concentration using a small amount of saliva and a rapid removal technique.

Keywords: high performance liquid chromatography; antiepileptic drugs; therapeutic monitoring; nanomaterials; sample preparation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática da d-SPE magnética.....	25
Figura 2 -	Representação dos momentos magnéticos.....	26
Figura 3 -	Estrutura cristalina da magnetita.....	28
Figura 4 -	Esquema representativo do sistema de HPLC.....	33
Figura 5 -	Espectros FT-IR dos materiais sintetizados.....	61
Figura 6 -	Imagens de MEV dos materiais sintetizados.....	62
Figura 7 -	Imagens de MEV das nanopartículas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> em diferentes aplicações.....	63
Figura 8 -	Imagens de MEV de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @TEOS em diferentes aplicações.....	64
Figura 9 -	Imagens de MEV e mapeamento EDS em 2D dos elementos silicone-substrato (Blue), ferro (magenta) e oxigênio (verde) em Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @TEOS.....	64
Figura 10 -	Imagens de MEV do Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @TEOS@MPS em diferentes aplicações.....	65
Figura 11 -	Imagens de MEV do M-CP em diferentes aplicações.....	66
Figura 12 -	Comportamento térmico das amostras.....	68
Figura 13 -	Cromatogramas das análises por HPLC.....	84

## LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 -	Filtraçã da fase móvel.....	46
Fotografia 2 -	Etapa de síntese das nanopartículas de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	48
Fotografia 3 -	Lavagem do material.....	48
Fotografia 4 -	Agitação mecânica horizontal.....	49
Fotografia 5 -	Mistura purgada com N <sub>2</sub> .....	50
Fotografia 6 -	Etapa de polimerização.....	51
Fotografia 7 -	Lavagem do M-CP.....	59
Fotografia 8 -	Materiais formados nas etapas de síntese.....	59

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Variação da carga superficial de acordo com o pH para o M-CP.....	67
Quadro 2 -	Desejabilidade global predita pelo modelo e valores experimentais obtidos.....	71
Quadro 3 -	Análise gráfica dos resíduos do modelo.....	71
Quadro 4 -	Superfícies de resposta e curvas de contorno do modelo ótimo de adsorção dos fármacos em M-CP.....	72
Quadro 5 -	Modelos de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP.....	75
Quadro 6 -	Modelos de difusão intrapartícula de Weber-Morris para a cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP.....	76
Quadro 7 -	Modelos de isoterma de adsorção de fenobarbital em M-CP.....	81
Quadro 8 -	Fator de separação para a adsorção de fenobarbital em M-CP...	82
Quadro 9 -	Áreas de pico obtidas para os fármacos em diferentes diluições da amostra de saliva em água Mili-Q.....	83
Quadro 10 -	Curvas de calibração dos fármacos.....	85

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características dos Anticovulsivantes.....	20
Tabela 2 -	Monômeros usados em preparo de polímeros.....	31
Tabela 3 -	Principais agentes de ligação cruzada.....	32
Tabela 4 -	Reparametrizações da isoterma de Radke Prausnitz.....	39
Tabela 5-	Equações não-lineares para os modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo- segunda ordem, modelo de Elovich e modelo de Avrami.....	42
Tabela 6-	Parâmetros cromatográficos.....	47
Tabela 7 -	Fatores otimizados para extração.....	54
Tabela 8 -	Planejamento experimental e dados de desejabilidade individual e global para o estudo dos fármacos em M-CP.....	69
Tabela 9 -	Análise de variância do modelo geral para adsorção em M-CP.....	69
Tabela 10 -	Análise de variância do modelo ótimo dos fármacos em M-CP.....	70
Tabela 11 -	Expressões, estimativas, desvio padrão e significância dos parâmetros dos modelos de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP.....	73
Tabela 12 -	Valor-p obtido para os testes da análise dos resíduos dos modelos de cinética de adsorção fenobarbital em M-CP.....	74
Tabela 13 -	Critérios de seleção dos modelos de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP.....	74
Tabela 14 -	Informações dos modelos de difusão intrapartícula de Weber - Morris no estudo de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP.....	75
Tabela 15 -	Estimativas, desvio padrão e significância dos parâmetros das isotermas de dois e três parâmetros para adsorção de fenobarbital em M-CP.....	77
Tabela 16 -	Valor-p obtido para os testes da análise das pressuposições das isotermas de adsorção de fenobarbital em M-CP.....	78
Tabela 17 -	Critérios de informação para seleção dos modelos.....	79
Tabela 18 -	Métricas de avaliação da intensidade dos resíduos dos modelos de Langmuir e Jovanovic para a adsorção de fenobarbital em M-CP.....	80
Tabela 19 -	Informações sobre o parâmetro $q_{e_{max}}$ dos modelos selecionados....	80
Tabela 20 -	Parâmetros de validação para o experimento de extração e eluição dos fármacos.....	85
Tabela 21 -	Comparação entre os valores de LD neste trabalho e a literatura.....	86

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Anticonvulsivante
ABCVA	Ácido 4,4'-azobis(4-cianoaléico)
ACN	Acetonitrila
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CCRD	Delineamento Composto Central Rotacional
DPR	Desvio Padrão Relativo
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
d-SPE	Extração em fase sólida dispersiva
EDS	Espectroscopia por energia dispersiva
ER	Erro relativo
EGDMA	Etileno Glicol Dimetacrilato
LLE	Extração líquido-líquido
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
FM	Fase Móvel
FT-IR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IIPs	Polímeros Impressos com Íons
M-CP	Copolímero magnético
MAA	Ácido metacrílico
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MBA	N,N'- metilenobisacrilamida
MIPs	Polímeros Molecularmente Impressos
MNPs	Nanopartículas Magnéticas
MPS	3-(trimetoxisilil) propil metacrilato
NPs	Nanopartículas
PPO	Pseudo-primeira ordem
PSO	Pseudo-segunda ordem
PI	Padrão Interno
SPE	Extração em Fase Sólida
TEOS	Tetraetilortosilicato
UV	Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>19</b>
2.1	FÁRMACOS ANTICONVULSIVANTES.....	19
<b>2.1.1</b>	<b>Primidona.....</b>	<b>20</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Fenobarbital.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1.3</b>	<b>Fenitoína.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1.4</b>	<b>Carbamazepina.....</b>	<b>22</b>
2.2	ANÁLISE EM SALIVA E PREPARO DE AMOSTRA.....	22
<b>2.2.1</b>	<b>Extração em fase sólida dispersiva magnética (d-SPE magnética).....</b>	<b>24</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Nanopartículas magnéticas e magnetismo.....</b>	<b>25</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Magnetita.....</b>	<b>27</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Superparamagnetismo na adsorção e separação da amostra.....</b>	<b>29</b>
2.3	M-CP: POLI (METIL METACRÍLICO-CO-ETILENO GLICOL DIMETACRILATO).....	30
2.4	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC).....	32
2.5	ESTUDOS DE ADSORÇÃO.....	34
<b>2.5.1</b>	<b>Isotermas de adsorção.....</b>	<b>34</b>
2.5.1.1	Modelo de Langmuir.....	34
2.5.1.2	Modelo de Freudlich.....	35
2.5.1.3	Modelo de Dubinin-Radushkevich.....	35
2.5.1.4	Modelo de Temkin.....	36
2.5.1.5	Modelo de Elovich.....	36
2.5.1.6	Modelo de Harkins-Jura.....	37
2.5.1.7	Modelo de Jovanovic.....	37
2.5.1.8	Modelo de Sips.....	37
2.5.1.9	Modelo de Koble-Corrigan.....	38
2.5.1.10	Modelo de Radke-Prausnitz.....	38
2.5.1.11	Modelo de Toth.....	39

2.5.1.12	Modelo de Redlich-Peterson.....	40
2.5.1.13	Modelo de Langmuir-Freudlich.....	40
2.5.1.14	Modelo de Hill.....	41
<b>2.5.2</b>	<b>Cinéticas de adsorção.....</b>	<b>41</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>44</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	44
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>45</b>
4.1	REAGENTES, SOLUÇÕES E EQUIPAMENTOS.....	45
4.2	ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	46
4.3	SÍNTESE.....	47
4.4	CARACTERIZAÇÃO.....	51
4.4.1	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR).....	51
4.4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	52
4.4.3	Potencial zeta.....	52
4.4.4	Análises térmicas.....	52
4.5	PREPARO DE AMOSTRA E DILUIÇÃO DA SALIVA.....	53
4.6	OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DOS ACS EM SALIVA.....	54
4.7	ESTUDOS DE ADSORÇÃO.....	55
<b>4.7.1</b>	<b>Cinética de adsorção.....</b>	<b>55</b>
<b>4.7.2</b>	<b>Isotherma de adsorção.....</b>	<b>56</b>
4.8	VALIDAÇÃO ANALÍTICA.....	56
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>58</b>
5.1	SÍNTESE.....	58
5.2	CARACTERIZAÇÃO.....	60
<b>5.2.1</b>	<b>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR).....</b>	<b>60</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</b>	<b>61</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Potencial zeta.....</b>	<b>66</b>
<b>5.2.4</b>	<b>Análises térmicas.....</b>	<b>67</b>
5.3	OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE ACS NA SALIVA.....	68

5.4	ESTUDOS DE ADSORÇÃO.....	73
<b>5.4.1</b>	<b>Cinética de adsorção.....</b>	<b>73</b>
<b>5.4.2</b>	<b>Isoterma de adsorção.....</b>	<b>77</b>
5.5	DILUIÇÃO DA SALIVA.....	82
5.6	VALIDAÇÃO DO MÉTODO.....	83
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>88</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>89</b>
	<b>ANEXO A.....</b>	<b>101</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O preparo de amostra é uma etapa crítica que pode apresentar desafios específicos em se tratando de matrizes complexas como as biológicas, alimentares e ambientais. Esse procedimento visa isolar o analito de interesse presente na matriz, minimizando ou excluindo as macromoléculas interferentes, sem prejudicar a detectabilidade e os equipamentos utilizados (Bordin *et al.*, 2015). Nesse contexto, a ineficiência no preparo de amostras complexas pode resultar em entupimentos e danos maiores em sistemas cromatográficos, além de resultados equivocados. Especificamente, a escolha adequada de uma técnica de preparo de amostra é um fator importante para obtenção de resultados confiáveis e mais precisos (Jardim, 2010). Portanto, a escolha da técnica deve ser fundamentada nas propriedades físico-químicas dos componentes da amostra e dos analitos, tais como: polaridade, estabilidade química e térmica, lipofilicidade, entre outros (Figueiredo; Borges; Queiroz 2015). Diante este cenário, o pré-tratamento de amostras, que abrangem etapas como extração, purificação e pré-concentração são requeridas nas análises cromatográficas, aumentando a sensibilidade e seletividade analítica (Queiroz; Lanças, 2005).

A extração em fase sólida (*Solid Phase Extraction: SPE*) tem sido uma das técnicas de preparo de amostra mais utilizadas, principalmente pela possibilidade de emprego de sorventes inteligentes, capazes de capturar e preconcentrar o analito, eliminando interferentes nas amostras. No caso de amostras biológicas, o maior problema recai nas proteínas que causam entupimento dos sistemas cromatográficos, diminuição da eficiência de extração dos materiais, além de imprecisão e inexatidão dos métodos (Faria *et al.*, 2017). Por isso a grande procura pelo desenvolvimento de materiais sorventes eficientes, capazes de extrair moléculas de baixo peso molecular e eliminar proteínas presentes na matriz (Queiroz; Melo, 2014).

Os nanomateriais magnéticos normalmente possuem alta capacidade adsortiva, e facilidade de uso por meio de sua manipulação empregando um campo magnético externo (ímã). Isso torna estes materiais eficientes para a SPE dispersiva (d-SPE) no preparo de amostra. A literatura reporta uma grande diversidade de aplicações para estes materiais, em análise clínica, alimentar e bioanalítica, sendo uma das estratégias de preparo de amostras mais empregada atualmente (Huang *et al.*, 2019; Liu; Yu; Zou, 2020; Augusto *et al.*, 2020).

A epilepsia é uma das doenças neurológicas mais comuns que pode afetar pessoas de faixas etárias e raças diferentes. É uma condição caracterizada por predisposição de gerar convulsões e por consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais (Beghi, 2020). Atualmente há uma grande variedade de anticonvulsivantes (ACs) disponíveis e que podem ser prescritos como medicação por profissionais da saúde. Por isso o presente estudo visa detecção simultânea dos fármacos fenobarbital, fenitoína, carbamazepina e primidona, da classe dos barbitúricos. A quantificação de AC é usada como uma prática no tratamento da epilepsia para auxiliar na terapia medicamentosa por meio do monitoramento terapêutico que se torna importante uma vez que otimiza o resultado clínico de um paciente e ajuda no gerenciamento da administração do medicamento pelo profissional de saúde (Patsalos; Berry, 2018).

Alguns trabalhos relacionados à detecção desses anticonvulsivantes já foram relatados. A quantificação de carbamazepina em sangue capilar seco, por exemplo, foi feita a partir da validação de um método cromatográfico (Muller; Lizot; Linden, 2022). Ainda para o mesmo fármaco foi realizada a determinação em saliva por cromatografia líquida de alta eficiência (De diego *et al.*, 2022). A primidona foi quantificada por Schierscher *et al.*, (2024) em soro e plasma por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas e utilizando um protocolo de precipitação de proteínas como preparo de amostra.

Fenitoína e fenobarbital, por exemplo, foram detectados simultaneamente em plasma, saliva e urina, utilizando a técnica de extração por eletro-membrana e cromatografia líquida de alta eficiência (Dolatabadi *et al.*, 2021).

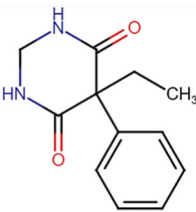
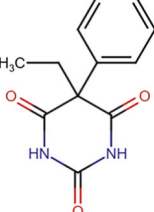
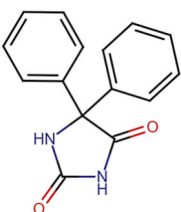
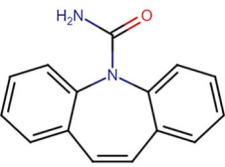
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 FÁRMACOS ANTICONVULSIVANTES

Pesquisas estimam que cerca 1% da população mundial é acometida por epilepsia, com incidência variada de acordo com as condições socioeconômicas, idade, sexo e raça (Costa; Brandão; Segundo, 2020). A epilepsia é uma condição caracterizada por predisposição de gerar convulsões assim como por consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais (Beghi, 2020). Esse distúrbio pode ser controlado pela administração de fármacos específicos, sendo a monitorização terapêutica destes, uma ferramenta indispensável e fundamental para auxiliar no ajuste de dose, minimizando efeitos tóxicos (Patrick *et al.*, 2021).

Os ACs também chamados de antiepiléticos apresentam ação caracterizada pela inibição da hiperatividade neuronal como consequência do bloqueio de canais de sódio e cálcio dependentes de voltagem, podendo também ocorrer inibição da neurotransmissão de aminoácidos excitatórios, resultando no aumento da atividade GABAérgica do ácido g-aminobutírico (Söderpalm, 2002; Kwan; Brodie, 2004). Os AC analisados neste estudo incluem primidona (PRM), fenobarbital (PB), fenitoína (PHT) e carbamazepina (CBZ), escolhidos por estarem entre os mais prescritos por profissionais de saúde e por serem fornecidos pelo Sistema Único de Saúde no Brasil. A Tabela 1 a seguir resume algumas características físico-químicas importantes e a faixa terapêutica sanguínea e salivar dos quatro fármacos.

Tabela 1 – Características dos anticonvulsivantes.

Característica	PRM	PB	PHT	CBZ
Estrutura química				
Massa molecular	218,25	232,23	252,27	236,27
pKa	13	7,3	8,3	13,9
Log-p	0,91	1,47	2,47	2,77
Ponto de fusão (°C)	281 - 282	174	295 - 298	189 - 192
Solubilidade em água (mg L <sup>-1</sup> )	600	1.100	710	170
Razão saliva/soro	0,07 - 1,15	0,63 - 0,68	0,99 - 1,06	1,39 - 1,44
Faixa terapêutica no sangue (mg L <sup>-1</sup> )	5 - 10	10 - 40	10 - 20	4 - 12
Faixa terapêutica na saliva (mg L <sup>-1</sup> )	5 - 12	5 - 15	1 - 2	1,2 - 3,5

Fonte: Adaptado de PubChem, Santos (2016) e Patsalos; Berry (2018).

### 2.1.1 Primidona

A PRM, 5-etilexaidro-4,6-dioxo-5-fenilprimidona é um barbitúrico licenciado para tratamento de crises convulsivas psicomotoras generalizadas ou parciais. O uso deste fármaco tem efeitos terapêuticos dependentes dos metabólitos ativos: feniletilmalonamida e PB (Leod, 2008; Santos, 2016). Estruturalmente se assemelha a muitos derivados barbitúricos, mas possui uma carbonila ausente na posição 2, tornando-a um composto com propriedades diferentes dos barbitúricos por se caracterizar como uma molécula diamida cíclica e não como imida

(Almeida; Bergold, 2002).

Em se tratando de suas propriedades farmacocinéticas, a PRM é rapidamente absorvida após ingestão oral, é metabolizada no fígado para formar seus metabólitos ativos, em sua maioria PB e fenil-etil-malonamida.

### **2.1.2 Fenobarbital**

O PB é um ácido fraco, barbitúrico substituído (5-etil-fenilbarbitúrico) indicado em casos de crises parciais simples, em tratamento de status epiléptico bem como em crises convulsivas no período neonatal (Rocha *et al.*, 2004). É parcialmente solúvel em água e quando ingerido, é rapidamente absorvido (2 a 4 horas) e amplamente metabolizado no fígado com biodisponibilidade >90 e meia-vida de 70 a 140 horas em adultos (Bialer, 2012; Petre; Strah, 2015).

O PB tem potencial depressor do córtex motor, age aumentando o limiar das células e a inibição pré-sináptica, resultando na diminuição das descargas de neurônios nos casos epilépticos (Rocha *et al.*, 2004). Ainda, ao se ligar ao sítio alostérico do receptor ácido  $\alpha$ -aminobutírico, potencializa a ação de GABA endógeno quando aumentando a duração da abertura dos canais de íons cloreto (Guerreiro, 2006). É um pó cristalino branco inodoro com boa solubilidade em água e baixa solubilidade lipídica (Repetto; Repetto, 2015).

Estudos demonstraram que o PB se distribui na saliva e que há uma possível correlação entre saliva e concentrações de PB não ligado às proteínas, indicando que a saliva pode ser uma matriz alternativa útil para determinação do fármaco livre (Patsalos; Berry, 2018).

### **2.1.3 Fenitoína**

Este fármaco é licenciado para convulsões focais em doentes de qualquer idade, para casos de convulsões durante ou após neurocirurgia e lesões graves na cabeça. Também é eficaz em casos de convulsões parciais e estado epiléptico em crianças (Kodama *et al.*, 2001; Petre; Strah, 2015). A PHT age aumentando o tempo de inativação dos canais de sódio dos neurônios e assim se liga nos picos negativos dos canais de sódio (Firmino, 2007). Sua farmacocinética é a mais complexa dentre os anticonvulsivantes, de absorção lenta e tem concentração

salivar semelhante à livre não ligada às proteínas no soro indicando que de fato estão significativamente correlacionadas (Patsalos; Berry, 2018; Silva, 2006).

#### 2.1.4 Carbamazepina

A CBZ é administrada usualmente para o tratamento de distúrbios convulsivos e dor neuropática. Também utilizada como tratamento para transtorno bipolar em combinação com antipsicótico em alguns casos de esquizofrenia (Alrashood, 2016). Estruturalmente, sua molécula é tricíclica, sendo derivada do iminoestilbeno com um grupo carbamil na posição 5 e é similar aos fármacos psicoativos com características estruturais em comum com os fármacos PHT e PB (Galvão, 2009; Araújo *et al.*, 2011). Este fármaco se encontra na forma de pó cristalino branco, tem muito baixa solubilidade em água, pouca em álcool e acetona e é livremente solúvel em diclorometano e cloreto de metileno ou metanol (Alrashood, 2016).

Quanto a farmacocinética, ela é lentamente absorvida no trato gastrointestinal e é altamente capaz de se ligar às proteínas. A concentração salivar de CBZ se assemelha com a livre (não ligada à proteína no soro) e a meia-vida de eliminação da molécula inalterada é aproximadamente 36 horas, mas sendo diminuída para 16 a 24 horas em casos de administração prolongada (Galvão, 2009; Patsalos; Berry, 2018).

Quanto ao mecanismo de ação, sabe-se que a CBZ é capaz de estabilizar a membrana do nervo hiperexcitado, bloqueando as descargas neuronais repetitivas e diminuindo a propagação sináptica dos impulsos excitatórios (Moreno *et al.*, 2005; Araújo *et al.*, 2010). Também pode exercer efeito potencializador da ação de GABA, inibindo a geração dos potenciais de ação (Galvão, 2009). Ainda, outros autores sugerem que ela estimula a liberação do hormônio antidiurético junto de outras ações secundárias como efeitos antidepressivos, antiarrítmicos e anticolinérgicos, e que é capaz de diminuir a neurotransmissão sináptica, efeito responsável pela ação anticonvulsivante (Bourgeois; Wad, 1984; Galvão, 2009).

## 2.2. ANÁLISE EM SALIVA E PREPARO DE AMOSTRA

A análise de fármacos em fluidos biológicos é essencial em diversas áreas como na toxicologia, pesquisa farmacêutica e química clínica. Esses ensaios

apresentam dificuldades uma vez que os fármacos normalmente estão presentes em baixas concentrações e apresentam forte ligação às proteínas. Os compostos presentes em matrizes biológicas complexas como plasma, soro, urina e saliva, podem causar interferências na identificação e/ou quantificação do analito (Cassiano *et al.*, 2006; Queiroz; Lanças, 2005).

A quantificação de AC é usada como uma prática no tratamento da epilepsia para auxiliar na terapia medicamentosa e no monitoramento terapêutico (Patsalos; Berry, 2018). Embora as concentrações sejam mais comumente determinadas em amostras de soro ou plasma, os ACs possuem perfis farmacocinéticos diferentes e a mesma dose administrada pode resultar em diferentes níveis plasmáticos em diferentes pacientes (Patsalos *et al.*, 2018). Esse monitoramento se torna importante uma vez que otimiza o resultado clínico de um paciente e ajuda no gerenciamento da administração do medicamento pelo profissional de saúde, tendo em vista a dificuldade de identificação da dose ideal com base somente clínica.

Considerando a complexidade de uma matriz biológica, as etapas de preparo de amostra influenciam na qualidade da análise. Ainda, existem outras etapas determinantes para qualidade dos procedimentos como a coleta, armazenamento, pré-tratamento, otimização e validação do método (Figueiredo; Borges; Queiroz, 2015).

A saliva como amostra biológica para análise de rotina é menos invasiva, podendo ser facilmente coletada, principalmente em casos de pacientes em estado epilético, tornando o monitoramento terapêutico possível. O monitoramento terapêutico usando saliva tem também como vantagem o fato da concentração na saliva se correlacionar muito bem com a concentração livre de fármaco no sangue (Patrick *et al.*, 2021). Por isso a saliva tem se tornado uma alternativa às análises em soro ou plasma, sendo aplicável aos ACs também porque a concentração da droga, nesse tipo de amostra, corresponde à fração não ligada às proteínas e, portanto, a fração livre é melhor correlacionada com os efeitos farmacodinâmicos no organismo, tornando útil o monitoramento terapêutico salivar (Carona *et al.*, 2021; Patsalos; Berry, 2018).

Para análise de matrizes biológicas complexas por cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*: HPLC) geralmente é necessário pré-tratamento da amostra antes de sua injeção no sistema cromatográfico para concentrar e eliminar proteínas presentes na amostra. A escolha adequada de uma

técnica de preparo de amostra é um fator importante para obtenção de resultados confiáveis e mais precisos, assim, selecionar a técnica e as condições experimentais devem ser ações conduzidas cuidadosamente (Jardim, 2010). Portanto, a técnica escolhida deve ser fundamentada nas propriedades físico-químicas dos componentes da amostra, tais como: polaridade, estabilidade química e térmica, lipofilicidade, entre outros (Borges *et al.*, 2015). Diante deste cenário, o pré-tratamento de amostras, que abrangem etapas como extração, purificação e pré-concentração são requeridas nas análises cromatográficas, aumentando a sensibilidade analítica.

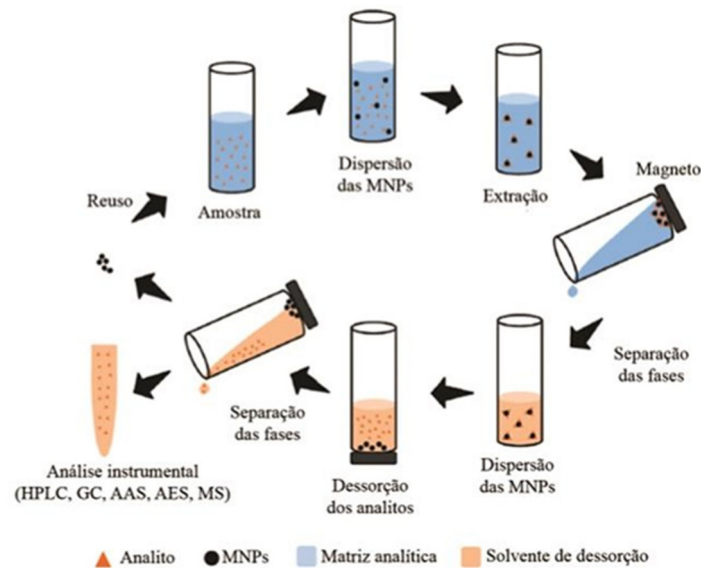
A extração é uma etapa essencial que tem como objetivo pré-concentrar os analitos e separá-los dos interferentes. Por isso foram desenvolvidas, por exemplo, extração líquido-líquido (*Liquid-liquid Extraction: LLE*) e SPE, dentre outras (Queiroz; Lanças, 2005; Viana; Menegário; Fostier. 2021), além de suas miniaturizações e variações.

### **2.2.1 Extração em fase sólida dispersiva magnética (d-SPE magnética)**

Essa técnica tem sido utilizada como alternativa a SPE convencional e a d-SPE (Lemos *et al.*, 2008), descartando a necessidade de centrífugas e sistemas de filtração acelerando o preparo de amostra e minimizando a perda dos analitos (Silva *et al.*, 2016). Na d-SPE, após a eluição, geralmente as fases são separadas por centrifugação ou filtração, etapas que podem ser vistas com uma desvantagem pois a separação pode não ser satisfatória e consomem tempo (Yin; Zhao; Yang, 2021). Por isso, novos materiais adsorventes magnéticos vêm sendo implementados por serem capazes de simplificar o processo de separação de modo eficiente, utilizando apenas um ímã.

Junto às essas vantagens, a d-SPE magnética melhora a eficiência do método analítico de maneira simplificada, realizando a dispersão do sorvente na matriz para extrair os analitos e depois com o auxílio de um magneto (ímã) a amostra é separada da fase extratora da matriz biológica. Por último os analitos são eluídos em solvente, as nanopartículas magnéticas (*Magnetic Nanoparticles: MNPs*) decantam e com auxílio do magneto o sobrenadante é conduzido para análise instrumental (Figueiredo; Borges; Queiroz, 2015). A Figura 1 exemplifica o processo da d-SPE magnética.

Figura 1 – Representação esquemática da d-SPE magnética



Fonte: Adaptado de Silva et al., (2016).

Este procedimento tem sido utilizado para o isolamento e pré-concentração dos analitos superando os longos tempos de extração necessários em técnicas convencionais de extração em fase sólida e líquida (Safarikova; Safarik, 1999). Como apresentado na Figura 1, após o procedimento de extração os analitos são eluídos do material extrator com o uso de solventes apropriados. O material magnético é separado com o auxílio de um ímã e o sobrenadante é utilizado para análise instrumental. Ainda, o material extrator pode ser lavado e reutilizado após análise.

### 2.2.2 Nanopartículas magnéticas e magnetismo

A nanociência é uma das mais importantes áreas de pesquisa dentro do campo da ciência moderna. O uso de nanopartículas (NPs) oferece vantagens devido a dimensão entre 1 e 100 nm e propriedades físicas singulares como área superficial, cinética de adsorção e uniformidade que são modificadas de acordo com a síntese realizada (Faraji; Yamini; Rezaee, 2010). As NPs vêm sendo usadas como ferramentas para obter redução na complexidade de amostras biológicas e têm sido utilizadas em técnicas de separação de proteínas-alvo por exemplo (Cortés *et al.*, 2012).

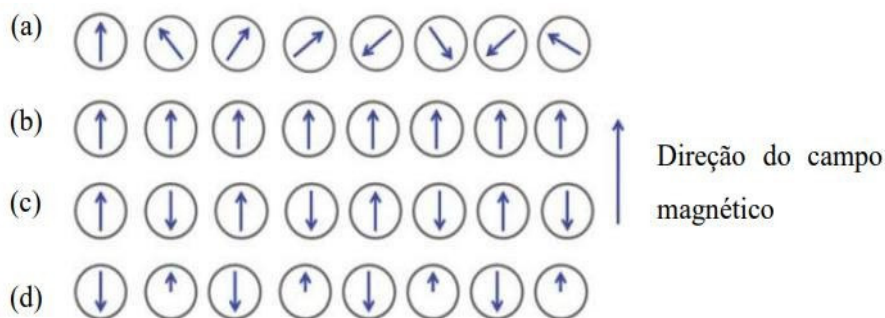
As NPs oferecem potencial para diversas aplicações como descontaminação

ambiental, coloração de imagens, agentes de contraste, processos catalíticos, dentre outras (Sagadevan; Chowdhury; Rafique, 2018; Wu; Huang, 2017; Francisquini; Sshoenmaker; Souza, 2014).

As MNPs mais comuns e populares são  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita) e  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ . A primeira é composta de Fe(II) e Fe(III) e é a preferida devido à presença do estado  $\text{Fe}^{2+}$  que atua como doador de elétrons (Mohammed *et al.*, 2017). Uma das principais características das MNPs é o superparamagnetismo que representa forte suscetibilidade magnética, coercitividade e a presença desse magnetismo é vantajoso para reações químicas podendo ser facilmente isolados de uma solução (Mendonça *et al.*, 2019).

O magnetismo dos materiais é originado da estrutura atômica permitindo o surgimento de ímãs microscópicos chamados de momentos magnéticos. Esses são provenientes dos spins dos elétrons (momento magnético intrínseco) que ao se acoplarem, resultam em propriedades magnéticas diferentes sendo apresentadas pelos materiais como: diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, antiferromagnetismo e ferrimagnetismo, dependendo do momento magnético resultante após exposição a um campo magnético externo (Figura 2) (Faraji; Yamin; Rezaee, 2010; Holanda et al., 2020).

Figura 2 – Representação dos momentos magnéticos



Fonte: Rios *et al.*, (2013).

Legenda: a) paramagnético.  
 b) ferromagnético.  
 c) antiferromagnético.  
 d) ferrimanético.

A forma diamagnética está presente em todos os materiais, é amplamente independente de temperatura e geralmente muito mais fraca do que as outras formas (Langevin, 1905). O diamagnetismo é resultante de uma perturbação do movimento dos elétrons decorrida da força que há quando ocorre movimentação no campo

magnético. Esse por sua vez induz um momento magnético contrário ao próprio campo que o causa, determinando um valor negativo ao momento diamagnético (Martin, 1967; Roy, 2017). O paramagnetismo é a forma que exhibe elétrons desemparelhados (em diferentes direções) que possuem suscetibilidade positiva à ação de um campo magnético externo. Essa propriedade é observada em átomos e moléculas que possuem número ímpar de elétrons como o sódio e alguns metais, por exemplo (Kittel, 1978; Ríos *et al.*, 2013). Já as substâncias ferromagnéticas possuem um momento magnético que existe mesmo sem aplicação de campo magnético, e em geral é caracterizada por vários domínios magnéticos e momentos que se alinham no mesmo sentido. Contudo, os domínios podem mudar a direção entre domínios diferentes tendo como resultado em uma magnetização diferente do valor inicial teórico (Holanda *et al.*, 2020; Kittel, 1978).

O antiferromagnetismo condiz com materiais de momentos magnéticos em sentidos opostos e de mesma magnitude. Apesar da forte interação entre os spins eletrônicos, os materiais dessa classe são caracterizados pela inexistência de momento magnético total líquido quando ausente de campo externo e em baixas temperaturas. Essa classe de materiais possui susceptibilidade magnética nula devido às sub-redes formadas pelos spins, e ordenadas ferromagneticamente mas opostas entre si. Por fim, o ferrimagnetismo, acoplamento que surge também em baixa temperatura, é uma forma magnética que apresenta duas sub-redes opostas, não equivalentes e assim não se cancelam, tendo como resultado um arranjo ordenado (Holanda *et al.*, 2020; Mendes, 2018).

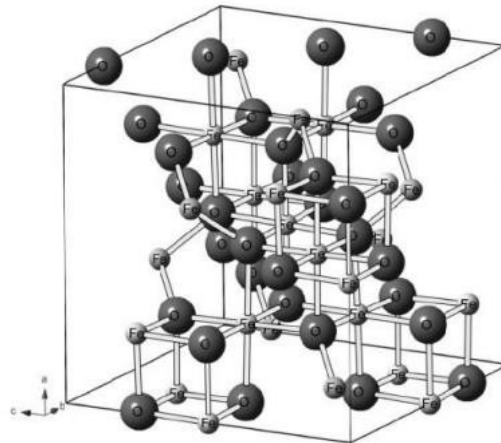
### 2.2.3 Magnetita

O magnetismo, descoberto há mais de 2500 anos, foi nomeado devido a região Turca rica em minério de ferro, a Magnésia e descobriu-se que o mineral capaz de atrair fragmentos ferrosos era a chamada magnetita. Atualmente, são reconhecidos vários óxidos de ferro ou derivados da magnetita (ferrita de ferro) presentes no ambiente (Rodríguez, 1998). A magnetita pode ser sintetizada por coprecipitação que ocorre em ambiente livre de oxigênio (inerte) devido a fácil oxidação da magnetita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) sendo transformada em maghemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) quando oxidada. A maghemita, apesar da sua estrutura semelhante à magnetita, é deficiente em  $\text{Fe}^{2+}$  e ambas são denominadas óxido ferrimagnético, ou seja, materiais que apresentam magnetização

espontânea, e não podem ser diferenciadas macroscopicamente (Jesus *et al.*, 2014; Soler; Paterno, 2015).

A magnetita (Figura 3) é um óxido de ferro de coloração negra, simetria cúbica e sua estrutura em espinélio é dada pela fórmula geral de óxidos  $AB_2O_4$ , sendo A e B cátions metálicos e a fórmula molecular pode ser expressa por  $Fe_3O_4$  ou  $FeO.Fe_2O_3$  (Mendes, 2018). Possui altos teores de ferro com 72% da sua massa, estrutura de espinélio e obrigatoriamente o íon  $Fe^{3+}$  divalente representado por  $M^{2+}$  tendo assim, a fórmula geral da ferrita como  $MFe_2O_4$  e composição  $FeOFe_2O_3$  devido ao fato de ser um mineral ferrimagnético, ou seja, contém ferro nos dois estados de oxidação (Guimarães *et al.*, 2008; Navarro; Pena; Fierro, 2006).

Figura 3 – Estrutura cristalina da magnetita



Fonte: Oliveira; Fabris; Pereira, 2013.

A presença da magnetita em MNPs promove estabilidade em caso de altas temperaturas e baixo pH, também auxilia na prevenção a corrosão do material (Ortiz *et al.*, 2003). Essa estabilidade é resultante do equilíbrio entre forças atrativas e repulsivas como as forças de van der Waals, forças eletrostáticas repulsivas e forças dipolares que ao serem adicionadas, induzem interações anisotrópicas. A magnetita possui átomos em sua superfície e em meio aquoso seus átomos de ferro se coordenam com as moléculas de água do meio e se dissociam. Esse cenário resulta numa superfície do óxido de ferro funcionalizada com grupos hidroxila que poderá ser negativa ou positiva dependendo do pH da solução e interferindo na estabilidade das partículas em água. Por isso, para que as MNPs de magnetita sejam estabilizadas, é necessário o uso de moléculas como a sílica, formada por exemplo através da hidrólise e condensação do tetraetilortosilicato (TEOS) utilizado na síntese do material

final (Mohammed *et al.*, 2017; Laurent *et al.*, 2008).

#### **2.2.4. Superparamagnetismo na adsorção e separação da amostra**

Existe uma variedade de materiais adsorventes desenvolvidos para minimizar custos e melhorar a capacidade adsorptiva, como por exemplo o carvão ativado, polímero e adsorventes naturais já relatados na literatura (Mthombeni.; Mbakopiand; Onyango, 2016). Nos últimos anos, o efeito dessas substâncias magnéticas na adsorção e separação tem sido bastante explorado com resultados promissores (Mendes, 2018).

Já foi relatada melhoria na separação ao serem adaptadas nanopartículas magnéticas em polímeros e polímeros molecularmente impressos (*Molecularly imprinted polymers*: MIPs), resultando também no aumento da resolução no cromatograma (detecção e separação dos picos cromatográficos) visto que o analito foi removido ou pré-concentrado da solução após separação por aplicação de um campo magnético externo (Chen *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2014).

O superparamagnetismo é conferido às MNPs e é um fenômeno que apresenta, em escala nanométrica, grande facilidade de isolamento e separação de meios complexos. Esse fenômeno é dependente das estruturas dos domínios magnéticos e do tamanho do material visto que uma dimensão pequena da partícula, abaixo de um tamanho crítico tende a ser uma partícula com monodomínios enquanto a partícula de maior dimensão pode apresentar multidomínios. O tamanho crítico possui ainda relação com a temperatura em que amostras magnéticas com dimensões reduzidas para a formação de paredes de domínios se comportam como um monodomínio. Nesse caso, as variações na magnetização devem ocorrer exclusivamente por meio de uma rotação uniforme da magnetização (Néel, 1949; Stoner; Wohlfarth, 1948).

Nesse cenário, as partículas estão contrárias ao campo magnético externo e desmagnetizadas, porém, a temperatura é capaz de inverter as orientações dos momentos magnéticos e assim, ao ser aplicado um campo externo, as partículas são conduzidas na direção dos mínimos de energia sendo possível a magnetização. Esse tipo de magnetismo evita a agregação magnética das nanopartículas passível de ocorrer devido à falta de magnetização líquida, sendo uma característica vantajosa para o uso em aplicações biomédicas e farmacêuticas (Fontanive *et al.*, 2014).

### 2.3. M-CP: POLI (ÁCIDO METACRÍLICO-CO-ETILENO GLICOL DIMETACRILATO)

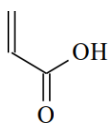
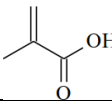
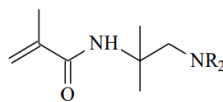
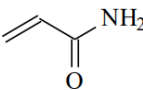
Atualmente, trabalhos com ênfase em síntese de materiais poliméricos estão sendo desenvolvidos devido as propriedades atraentes de adsorvidade e seletividade. O M-CP formado segue os princípios dos (MIPs) que se diferem pelo emprego de uma molécula molde (Yan; Row, 2006).

A escolha do método de síntese do material está relacionada a finalidade da aplicação de cada um deles. O método *bulk*, por exemplo, é utilizado em casos de SPE e consiste numa reação de síntese com ausência de oxigênio iniciada por aquecimento ou radiação ultravioleta. Porém esse método possui desvantagens como a perda de sítios de ligação formados ao triturar o material sintetizado, reduzindo a aplicação cromatográfica, além da necessidade de trituração (Qiao *et al.*, 2006; Figueiredo; Dias; Arruda, 2008).

A síntese por suspensão têm sido uma opção no processo de polimerização. Essa técnica envolve a solubilização do material em solvente orgânico apolar e a mistura é dispersa em fase polar imiscível, com adição de agente tensoativo para formação de emulsão, Logo em seguida a emulsão é aquecida junto de agitação constante e as partículas do polímero se tornam mais uniformes (Lai *et al.*, 2002). Ainda, a polimerização pode ser realizada por enxerto que consiste numa reação dentro dos poros esféricos (molde) de um suporte, havendo formação de microesferas posteriormente removidas com água e agitação (Wolman *et al.*, 2006).

A síntese do M-CP é realizada por polimerização, baseada em ligação química ou forças intermoleculares formando um complexo estável. Alguns monômeros podem ser utilizados nesta síntese como os representados na Tabela 2.

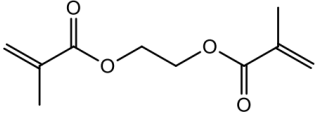
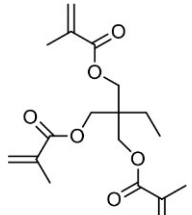
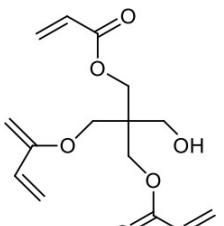
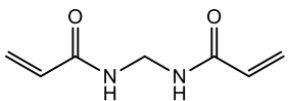
Tabela 2 – Monômeros usados em preparo de polímeros

Monômero funcional	Nome	Tipo de interação com o analito
	Ácido acrílico	Interação iônica e ligação de hidrogênio
	Ácido metacrílico	Interação iônica e ligação de hidrogênio
	Amino metacrilaminada	Interação iônica
	Acrilamida	Ligação de hidrogênio

Fonte: Adaptado de Tarley; Sotomayor; Kubota (2005).

Além dos monômeros, os agentes de ligação cruzada utilizados na síntese são representados na Tabela 3. Esses agentes são adicionados à síntese para dar rigidez a matriz polimérica, estabilizar os sítios ativos e dar forma ao polímero (Tarley; Sotomayor; Kubota, 2005). O solvente que compõe o meio reacional deve ser escolhido de modo que não exista interferência na interação com o analito para que não ocorra influência na morfologia do polímero (Yan; Row, 2006). Por fim, o iniciador radical necessário para o processo de polimerização, é responsável por gerar radicais livres que dão início a reação. Esse processo ocorre quando ele é clivado por aquecimento e permite que o agente englobe o complexo com a rede polimérica. Um dos iniciadores mais utilizados nas sínteses desses materiais, segundo artigos, é o AIBN (2,2'-azo-bis-iso-butironitrila) (Spivak, 2005; Tarley; Sotomayor; Kubota, 2005). Após a polimerização, o material é triturado (método *bulk*) e lavado com solvente adequado para retirada de reagentes remanescentes (Figueiredo; Dias; Arruda, 2008; Tarley; Sotomayor; Kubota, 2005).

Tabela 3 – Principais agentes de ligação cruzada

Estrutura	Nome
	Etileno glicol dimetacrilato (EGDMA)
	Trimetilolpropano trimetacrilato (TRIM)
	Pentaeritritol triacrilato (PETRA)
	N,N'- metilenobisacrilamida (MBA)

Fonte: Adaptado de Branger *et al.*, (2013).

Os materiais poliméricos têm sido aplicados em diversas áreas como em separação cromatográfica, diferentes tipos de extração e catálise por exemplo. Em técnicas de SPE (magnética ou não), vêm sendo aplicados para extração e detecção de fármacos e toxicantes em amostras biológicas (Figueiredo *et al.*, 2009; Yin *et al.*, 2006).

#### 2.4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

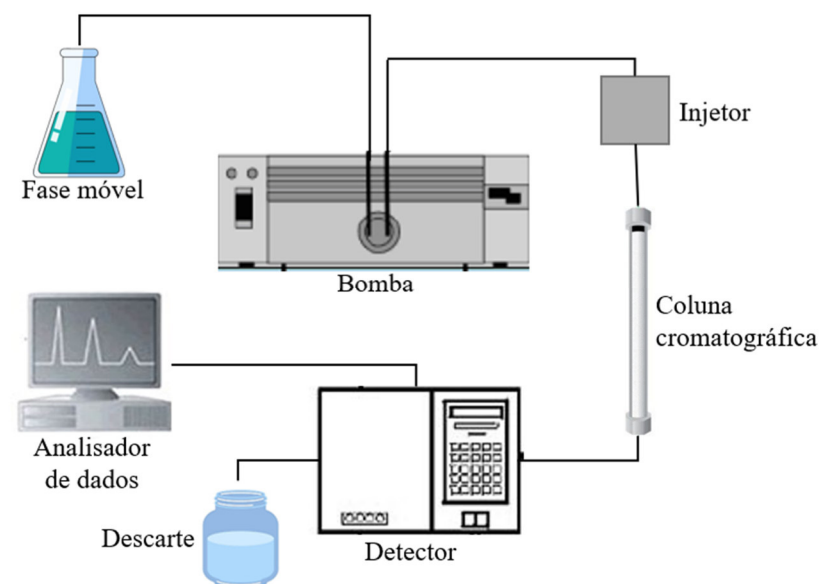
Esse tipo de técnica cromatográfica consiste em separar componentes de uma mistura, utilizando uma fase móvel (fluida) e uma fase estacionária (FE) empregada na coluna cromatográfica. É uma técnica físico-química bastante utilizada por pesquisadores devido a possibilidade de uso de diferentes temperaturas (5°C a 80°C) durante a análise, obtenção de dados qualitativos e quantitativos, alta sensibilidade, pequeno volume de amostra (5 µL até 100 µL) dentre outras vantagens que a técnica oferece (Collins, 2007; Tonhi *et al.*, 2002).

Em HPLC, o analito em questão é detectado em determinado tempo de retenção ( $t_R$ ), necessário para que ele se desloque pelo sistema entre a injeção e o detector. Este é carregado pela fase móvel (FM) que pode ser programada de formas: isocrática, por gradiente e por etapas. A mais utilizada para separação de analitos estruturalmente similares é a programação isocrática que consiste em análise com FM única ao longo do processo (Thermo fisher, 2018). A HPLC é caracterizada pelo uso de partículas micrométricas na FE, aumentando a resistência à passagem da FM, portanto é utilizado um sistema de bombeamento pressurizado para que a FM alcance uma vazão que ajude a obter separações com melhor resolução (Skoog *et al.*, 2006).

Para análise em HPLC são utilizadas colunas cromatográficas feitas de tubo de aço contendo dentro geralmente sílica ou óxido de sílico para a FE, onde ocorre a separação dos analitos da amostra. A escolha da coluna adequada para análise requer conhecimento da interação do analito com a FE para não prejudicar a separação e detecção (Snyder, 1997; Carmenzuli; Ritchie; Shalliker, 2013).

A Figura 4 a seguir apresenta um esquema representativo do sistema de HPLC.

Figura 4 – Esquema representativo do sistema de HPLC



Fonte: Autor (2025).

## 2.5. ESTUDOS DE ADSORÇÃO

O processo no qual ocorre a transferência de um composto em meio fluido (líquido ou gasoso) para uma superfície sólida (adsorvente) é chamado de adsorção. A adsorção pode ocorrer de maneira física ou química, sendo que na primeira, há formação de interações não covalentes entre as fases, e na segunda, ligação covalente, decorrente das elevadas energias envolvidas (Dabrowski, 2001). A adsorção física promove interação relativamente fraca que provém de ligações não covalentes (forças de Van der Waals) e a adsorção química, da troca ou compartilhamento de elétrons, criando uma nova ligação (Nascimento *et al.*, 2014).

A adsorção acontece quando o composto em meio fluido (adsorvato) migra para a interface fluido-sólido onde este continuará, por difusão, sua passagem entre os poros do material até alcançar os sítios ativos. É utilizada para separar as substâncias do meio em que se encontram através de mecanismo estérico, de equilíbrio (isoterma) e cinético (Santos, 2016; Nascimento *et al.*, 2014).

### 2.5.1. Isotermas de adsorção

O estudo de isotermas de adsorção permite aprofundamento dos tipos de interação entre os analitos e o adsorvente e fornecer estimativa da quantidade máxima de adsorvato. O estudo de equilíbrio é obtido utilizando uma massa fixa ( $m$ ) de adsorvente enquanto um determinado volume ( $V$ ) de solução de adsorvato é a ele adicionado em concentrações iniciais diferentes (concentração inicial  $C_0$ ). Quando o equilíbrio é atingido, a concentração do soluto na fase líquida é denominada  $C_e$  e a capacidade de adsorção no equilíbrio,  $q_e$  pode ser calculado (Santos, 2016; Nascimento *et al.*, 2014).

Alguns dos modelos isotérmicos de adsorção utilizados para ajuste dos parâmetros serão detalhados a seguir.

#### 2.5.1.1 Modelo de Langmuir

Esse modelo é um clássico entre os modelos de isoterma, que se aplica a processos que ocorrem pela formação de monocamadas, uma única camada adsorvida, em superfície homogênea na qual a taxa de dessorção depende apenas da quantidade de material presente (Langmuir, 1918; Hill, 1977). Ainda, a superfície

possui sítios de energia equivalentes e assim apenas uma molécula é adsorvida por sítio impossibilitando interações entre as moléculas já adsorvidas. A equação 1, representa a isoterma de Langmuir onde  $q$  indica a quantidade de soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ) (Foo; Hammed, 2010; Nascimento *et al.*, 2014; Langmuir, 1916).

$$q = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (1)$$

$q_{\max}$  – Capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ );

$K_L$  – Constante de interação adsorvato/adsorvente ( $\text{L mg}^{-1}$ );

$C_e$  – Concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );

#### 2.5.1.2. Modelo de Freundlich

A equação 2, de Freundlich, descreve o equilíbrio de adsorção sob superfície heterogênea (Chang *et al.*, 2000; Santos, 2016). Essa isoterma assume adsorção em multicamadas e possui sítios de energias diferenciadas, assim, aqueles mais energéticos têm prioridade nas ligações, causando diminuição da força de ligação dos outros sítios (Nascimento *et al.*, 2014; Santos, 2015, 2016).

$$q_e = k_F c_e^{1/n_F} \quad (2)$$

$q_e$  – Quantidade de soluto adsorvido ( $\text{mg g}^{-1}$ );

$C_e$  – Concentração de equilíbrio em solução ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$1/n$  – Constante relacionada à heterogeneidade da superfície;

$k_F$  – Constante de capacidade de adsorção ( $\text{mg g}^{-1} \text{L}^{-1}$ ).

#### 2.5.1.3. Modelo de Dubinin-Radushkevich

Dubinin-Radushkevich é comumente utilizada para expressar a adsorção com uma distribuição de energia gaussiana em superfície heterogênea. Sua equação é pouco aplicada para sistemas em fase líquida por não considerar aspectos do meio como pH, equilíbrio iônico e interações soluto-solvente (Dabrowski, 2001; Febrianto *et al.*, 2009). A equação ajustada a este modelo é dada pela equação 3 a seguir.

$$q_e = q_m \exp(-k\varepsilon^2) \quad (3)$$

$\varepsilon$  – Potencial de Polanyi;

$q_e$  – Quantidade de adsorção no equilíbrio (mol g<sup>-1</sup>);

$q_m$  – Capacidade máxima de adsorção teórica (mol g<sup>-1</sup>);

$k$  – Constante relacionada à energia de adsorção.

#### 2.5.1.2.4. Modelo de Temkin

Este modelo leva em consideração as interações adsorvente-adsorvato e assume que a temperatura influencia na cobertura da superfície devido essas interações (Okunola; Ojediran, 2019). Ainda, a equação dessa isoterma considera a distribuição uniforme de energias de ligação, e é mais adequada aos processos de adsorção em meio gasoso (Foo; Hameed, 2010; Kim, 2004). O modelo está representado pela equação 4.

$$q_e = \frac{RT}{b} \ln(a_T C_e) \quad (4)$$

$R$  – Constante universal dos gases;

$T$  – Temperatura;

$b$  – Constante de Temkin em relação ao calor de sorção;

$a_T$  – Constante de isoterma de Temkin;

$C_e$  – Concentração do adsorvato em solução, no equilíbrio (mg L<sup>-1</sup>).

#### 2.5.1.5 Modelo de Elovich

A equação 5 utilizada para este modelo é aplicada na adsorção em meio líquido apesar de ter sido inicialmente desenvolvida para estudo de um gás na superfície de um material sólido (McIntock, 1970; Nascimento *et al.*, 2014).

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(1 + \alpha\beta t) \quad (5)$$

$\alpha$  – Taxa de adsorção inicial (mg g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>);

$\beta$  – Constante de dessorção (mg g<sup>-1</sup>);

$q_t$  – Quantidade de metal adsorvido por biomassa utilizada em tempo  $t$  (mg g<sup>-1</sup>);

### 2.5.1.6 Modelo de Harkins-Jura

Geralmente, a equação de Harkins-Jura é aplicada na adsorção de sólido-gás e para determinar a área superficial do material adsorvente. Esse modelo predetermina uma possível adsorção multicamada de adsorventes com distribuição heterogênea dos poros (Harkins; Jura, 1944). A equação inclui  $A_{HJ}$  e  $B_{HJ}$  (parâmetros da isoterma) e é expressa por:

$$q_e = \left( \frac{A_{HJ}}{B_{HJ} - \log(C_e)} \right)^{1/2} \quad (6)$$

### 2.5.1.7 Modelo de Jovanovic

O modelo de Jovanovic é baseado nas suposições do modelo de Langmuir e leva em consideração a possibilidade de contatos mecânicos entre adsorbato e adsorvente, é aplicável à adsorção em monocamada sem interações laterais e é expressa como na equação 7 (Do, 1998; Wang *et al.*, 2010).

$$q_e = q_m (1 - e^{-K_J C_e}) \quad (7)$$

$q_m$  – Capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ );

$K_J$  – Constante de Jovanovic ( $\text{L mg}^{-1}$ ).

### 2.5.1.8 Modelo de Sips

Essa isoterma, também chamada de Langmuir-Freundlich, é uma combinação dos dois modelos e prevê a heterogeneidade dos sistemas de adsorção que quando em baixas concentrações, ocorrerá em multicamadas e em altas, em monocamada. O modelo de Sips é ainda utilizado para contornar as limitações relacionadas ao aumento das concentrações do modelo de Freundlich, tornando a expressão finita em alta concentração. Os parâmetros inclusos nesse modelo são regidos pelas condições de pH, temperatura e concentração de adsorbato (Al-ghouti; Da'ana, 2020; Lima; Adebayo; Machado, 2015; Foo; Hameed, 2010; Silva, 2016). A isoterma de Sips está representada pela equação 8 a seguir.

$$q_e = \frac{q_m K_S C_e^{1/bes}}{1 + K_S C_e^{1/bes}} \quad (8)$$

$q_m$  – Capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ );

$K_S$  – Constante de equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ )<sup>-1/n</sup>;

$bes$  – Expoente adimensional.;

#### 2.5.1.9 Modelo de Koble-Corrigan

A equação descrita por Koble e Corrigan (1952) é aplicável em ampla faixa de pressão e temperatura, é também uma combinação dos modelos de Langmuir e Freundlich (Koble; Corrigan, 1952). Essa isoterma considera a dissociação de moléculas diatômicas e o modelo só é válido quando o valor de  $n_K$  presente na equação 9 do modelo, é menor que 1.

$$q_e = \frac{A_K C_e^{n_K}}{1 + B_K C_e^{n_K}} \quad (9)$$

$A_K$  – Constante ( $\text{L}^n \text{mg}^{1-n} \text{g}^{-1}$ );

$B_K$  – Constante ( $\text{L mg}^{-1}$ )<sup>n</sup>;

$n_K$  – Expoente adimensional;

#### 2.5.1.10 Modelo de Radke-Prausnitz

Em baixas concentrações de adsorbato, o modelo se reduz à forma linear. Já sob altas concentrações se torna a isoterma de Freundlich e quando o valor de  $m_{RP} = 0$ , isoterma de Langmuir, tendo como característica importante, um bom ajuste em ampla faixa de concentrações (Ayawei *et al*, 2017).

A isoterma em questão está presente na literatura com reparametrizações diferentes como as representadas na Tabela 4, em que  $q_{RPI}$ ,  $q_{RPII}$  e  $q_{RPIII}$  são as capacidades máximas de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $m_{RPI}$ ,  $m_{RPII}$  e  $m_{RPIII}$  são os expoentes adimensionais e por fim,  $K_{RPI}$ ,  $K_{RPII}$  e  $K_{RPIII}$  as constantes de equilíbrio (Rangabhashiyam *et al.*, 2014).

Tabela 4 – Reparametrizações da isoterma de Radke-Prausnitz

Expressão	Autor
$q_e = \frac{q_{RP1} K_{RP1} C_e}{(1 + K_{RP1} C_e)^{m_{RP1}}}$	Abebe, Murthy e Amare (2018)
$q_e = \frac{q_{RP11} K_{RP11} C_e}{1 + K_{RP11} C_e^{m_{RP11}}}$	Rangabhashiyam <i>et al.</i> (2014)
$q_e = \frac{q_{RP111} K_{RP111} C_e}{1 + K_{RP111} C_e^{m_{RP111}-1}}$	
$q_e = \frac{q_{RP1V} K_{RP1V} C_e^{m_{RP1V}}}{q_{RP1V} + K_{RP1V} C_e^{m_{RP1V}-1}}$	Foo e Hameed (2010)
$q_e = \frac{a_{RP} x C_e^{m_{RP}}}{K_{RP} x C_e^{m_{RP}-1}}$	Liu e Liu (2008)

Fonte: Elaborada pelo Autor (2025).

#### 2.5.1.11 Modelo de Toth

Essa isoterma de Toth se adequa a materiais de superfície heterogênea, adsorção em monocamada em amplas faixas de concentrações do adsorbato e diferente dos outros, neste modelo, os sítios menos energéticos adsorvem mais energia devido a distribuição de energia quase-gaussiana assimétrica (Do, 1998; Foo; Hameed, 2010; Toth, 1971; Santos, 2016). Este modelo possui a forma descrita pela equação 10 e sua heterogeneidade é caracterizada pelo parâmetro  $n_T$  sendo este mais distante de 1, resulta em maior a heterogeneidade do sistema e  $n_T = 1$  representa que a isoterma de Toth é reduzida à de Langmuir (Do, 1998).

$$q_e = \frac{q_m k_T C_e}{[1 + (k_T C_e)^{n_T}]^{1/n_T}} \quad (10)$$

$k_T$  – Constante de equilíbrio de Toth ( $L \text{ mg}^{-1}$ );

$n_T$  – Expoente do modelo adimensional de Toth;

#### 2.5.1.12 Modelo de Redlich-Peterson

Assim como a de Sips, essa isoterma possui um modelo de adsorção intermediário entre Langmuir e Freundlich e é ajustado levando em consideração uma ampla faixa de concentração (Foo; Hameed, 2010). É aplicado para adsorção tanto em sistemas heterogêneos quanto homogêneos e quanto a concentração de adsorbato se comporta de forma semelhante ao modelo de Sips em que quando em altas concentrações se aproxima de Freundlich e em baixas (quando  $g_{RP} = 1$ ), de Langmuir (Lima; Adebayo; Machado, 2015; Mendes, 2018; Redlich; Peterson, 1959). A isoterma é representada como na equação 11.

$$q_e = \frac{K_{RP} C_e}{1 + a_{RP} C_e^{g_{RP}}} \quad (11)$$

$K_R$  e  $a_R$  – Constantes de Redlich-Peterson;

$g_{RP}$  – Expoente adimensional do modelo ( $0 < g_{RP} \leq 1$ ).

#### 2.5.1.13 Modelo de Langmuir-Freundlich

A isoterma de Langmuir-Freundlich foi proposta em 1952 e se trata de adsorventes com superfície heterogênea. A adsorção em baixas concentrações de adsorbato torna o modelo como modelo de Freundlich e em altas, de Langmuir (Koble; Corrigan, 1952). A equação do modelo, como expressa pela equação 12, envolve a constante de heterogeneidade  $m_{LF}$  ( $0 < 1/m_{LF} < 1$ ).

$$q_e = \frac{q_m (K_{LF} C_e)^{m_{LF}}}{1 + (K_{LF} C_e)^{m_{LF}}} \quad (12)$$

$q_m$  – Capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg L}^{-1}$ );

$K_{LF}$  – Constante de equilíbrio para sólidos heterogêneos ( $L \text{ mg}^{-1}$ ).

#### 2.5.1.14 Modelo de Hill

O modelo de Hill descreve a ligação em superfície homogênea e se tratando de adsorção, assume que o adsorbato quando em um sítio no adsorvente, pode influenciar outros sítios no mesmo adsorvente (Hill, 1946). Se tratando de um fenômeno cooperativo, a equação 13 expressa o modelo que inclui  $n_H$  como a constante de cooperatividade da interação e a constante de Hill  $K_H$  (Foo; Hameed, 2010; Hill, 1946), onde:

$$q_e = \frac{q_m C_e^{n_H}}{K_H + C_e^{n_H}} \quad (13)$$

$q_m$  – Capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ );

$K_H$  – Constante de Hill [ $(\text{mg L}^{-1})^{n_H}$ ];

$n_H$  – Constante de cooperatividade da interação.

#### 2.5.2 Cinéticas de adsorção

A cinética é realizada em estudos de adsorção relacionando o equilíbrio entre adsorbato- adsorvente com o tempo necessário para que ela ocorra. Esse processo envolve a transferência de massa do adsorbato para a superfície do adsorvente criando uma relação de  $q_e$  no eixo Y e tempo no eixo X. Essa relação é importante para se obter sistemas de adsorção adequados, por isso os modelos de cinética devem ser analisados (Qui *et al.*, 2009; Nascimento *et al.*, 2014).

Para se obter a cinética de adsorção em um estudo, é utilizada uma massa ( $m$ ) de adsorvente, um volume ( $V$ ) de adsorbato em solução com concentração definida (Nascimento *et al.*, 2014). Alguns fatores como pH, força iônica, concentração inicial de adsorbato, agitação e contato, bem como características físico-químicas do material como tamanho e granulometria influenciam na cinética de adsorção (Ho, 2006).

Após a construção de uma curva analítica é feita a avaliação da cinética de adsorção através de modelos (Tabela 5) como os de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem são ajustados bem como os modelos de Elovich e Avrami (CARDOSO *et al.*, 2011).

Tabela 5 – Equações não lineares para os modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem, modelo de Elovich e modelo de Avrami

Expressão	Modelo cinético
$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t})$	Pseudo-primeira ordem
$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + q_e k_2 t}$	Pseudo-segunda ordem
$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(1 + \alpha \beta t)$	Elovich
$q_t = q_e - q_e x e^{-k_A t^{n_A}}$	Avrami

Fonte: Adaptado de Cardoso *et al.*, (2011).

O modelo de pseudo-primeira ordem é o modelo mais simples e descreve a cinética de adsorção líquido-sólida inferindo uma relação diretamente proporcional entre a variação da adsorção do analito com a diferença entre a quantidade adsorvida no equilíbrio e a em qualquer tempo (Mendes, 2018; Plazinski *et al.*, 2013; Qui *et al.*, 2009; Santos, 2016). Esse modelo geralmente se ajusta melhor em dados de tempos de equilíbrio maiores e sua expressão envolve os parâmetros  $q_e$  e  $q_t$  representando respectivamente a quantidade de adsorbato por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ) e o tempo  $t$  (segundos). Está presente também a constante da taxa de adsorção ( $\text{s}^{-1}$ ), parâmetro representado por  $k_1$  influenciado pelas condições experimentais (Cardoso *et al.*, 2011; TAN; Hameed, 2017).

O modelo de pseudo-segunda ordem relata, assim como o modelo anterior, a capacidade que fase sólida possui de adsorver com a faixa de tempo de contato determinada. Em sua equação está representada a constante da taxa de adsorção de pseudo-segunda ordem  $k_2$  ( $\text{g mg}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) e os parâmetros  $k_1$  e  $k_2$  podem sofrer diminuição quando há aumento da concentração inicial de adsorbato (Qui *et al.*, 2009; Febrianto *et al.*, 2009).

O modelo de Elovich é mais aplicado quando a superfície do adsorvente é heterogênea e é utilizado para sistema envolvendo mecanismos de quimissorção,

considerando a interação química entre o adsorvente e o adsorvato a (Lima; Adebayo; Machado, 2015; Nascimento *et al.*, 2014). Em sua equação, os parâmetros  $\alpha$  e  $\beta$  representam respectivamente a taxa de adsorção inicial ( $\text{mg g}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) e a extensão da superfície e a energia de ativação na quimissorção ( $\text{g mg}^{-1}$ ).


Por fim, o modelo de Avrami foi proposto por Lopes *et al.* (2004) e é uma alternativa para casos de taxa de adsorção muito lenta e com mais de um mecanismo de adsorção. Em sua equação estão presentes  $k_A$  representando a constante de Avrami ( $\text{s}^{-1}$ ) e  $n_A$  a constante do mecanismo de adsorção.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVOS GERAIS

Sintetizar e caracterizar o polímero poli (ácido metacrílico-etileno glicol dimetacrilato) (M- CP), emprega-lo na extração simultânea de quatro anticonvulsivantes em saliva humana e avaliar a detecção por HPLC-UV.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 
- a.) Sintetizar um M-CP para extração dos ACs em amostras de saliva;
  - b.) Caracterizar os materiais sintetizados por técnicas de infravermelho (FT-IR), Potencial zeta, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Termogravimetria (TG);
  - c.) Otimizar a d-SPE magnética dos fármacos com o material sintetizado;
  - d.) Otimizar o sistema de análise dos fármacos em HPLC-UV;
  - e.) Aplicar técnicas multivariadas na otimização dos fatores relacionados ao sistema para maximizar as respostas analíticas;
  - f.) Realizar estudos de cinética e isoterma de adsorção;
  - g.) Validar o método cromatoQuadro desenvolvido.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 REAGENTES, SOLUÇÕES E EQUIPAMENTOS

Soluções estoques de PRM, PB, PHT, CBZ e hidantoína (HD), utilizado como padrão interno (PI), (Sigma-Aldrich, USA) foram preparadas em metanol (MeOH) grau HPLC da SigmaAldrich® (São Paulo, Brasil) e água ultrapura (Millipore®, EUA), e armazenadas em frasco âmbar a -20°C por até 6 meses.

Diluições foram realizadas para a obtenção das soluções de trabalho e preparadas no momento de uso. Soluções de hidróxido de sódio (Vetec®, Brasil) e ácido clorídrico (Êxodo Científica®, Brasil) foram utilizadas para o ajuste de pH. Fosfato monopossásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Microbioquímica®, Brasil) foi utilizado no preparo do tampão para fase móvel.

Padrões de cloreto de ferro(II) tetra hidratado (FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O), cloreto de ferro (III) (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O), ácido 4,4'-azobis(4-cianoaléico) (ABCVA), 3-(trimetoxisilil) propil metacrilato (MPS), tetraetilortosilicato, ácido metacrílico (MAA), etilenoglicol dimetacrilato.

Equipamentos utilizados durante os processos de síntese e do sistema cromatoQuadro envolveram: vidrarias apropriadas; freezer (Brastemp®, Brasil); sistema Milli-Q (Millipore®, EUA); Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu®, Japão); balança analítica (Shimadzu®, Kyoto, Japão); bomba a vácuo (New Pump®, EUA); filtro de celulose (Millipore®, EUA); banho-maria acoplado com termostato Thermomix BM (B.Braun Biotech International, Melsungen, Alemanha); banho ultrassônico, modelo USC2800A (Unique, São Paulo, Brasil); estufa S.E. (Fanem®, Brasil); micropipetas (Peguepet®, Brasil; Digipet®, Brasil); vórtex (Fanem®, Brasil); agitador mecânico modelo TE-099 Unidade Potter (Tecnal, São Paulo, Brasil); nitrogênio gasoso (White Martins®, Brasil), pHmetro (Analyser®, São Paulo, Brasil); ímã ferromagnético e agitador manual.

Na caracterização dos materiais foram utilizados espectrômetro de infravermelho ultravioleta-visível, modelo IR System Shimadzu® - Prestige 21; termobalança, modelo SDT Q600 (TA Instrumentos, New Castle, EUA); para análise térmica foi utilizado um DSC60 plus Shimadzu; para o potencial zeta utilizou-se analisador de espalhamento de luz dinâmico (DLS) Zetasizer ZS Nano

(Malvern Penalytical®, São Paulo, Brazil) e Philips XL-30 FEG (Field Emission Gun) foi o aparelho para análise por MEV.

#### 4.2 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A análise cromatográfica foi realizada para PRM, PB, PHT, CBZ e HD em amostra biológica (saliva), com detecção por ultravioleta (UV-vis), empregando uma coluna C<sub>18</sub> Macherey-Nagel® (250 mm x 4,6 mm) e utilizando uma FM composta por tampão fosfato monopotássico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 0,01 mol L<sup>-1</sup> (pH = 4,88) : acetonitrila : metanol (55:25:20). A correção do pH necessária para FM foi realizada com uma solução de NaOH 1% (m/v). Depois de pronta, a FM foi filtrada para retirada de impurezas como demonstrado pela Fotografia 1 e sonicada em ultrassom por 30 min para retirada dos gases em solução. Ainda, uma composição de maior porção aquosa (90:10 v:v) e outra de maior porção orgânica (80:20 v:v) foram usadas para garantir a limpeza do sistema entre os ciclos de análise.

Fotografia 1 – Filtração da fase móvel



Fonte: Autor (2024).

A otimização das condições cromatográficas se iniciou pelas condições dispostas por Liu *et al.* (1993). Contudo, foram necessárias alterações nos parâmetros de operação da análise cromatográfica, dispostos na Tabela 6, para permitir a separação dos analitos e seletividade do método.

Tabela 6 – Parâmetros cromatográficos

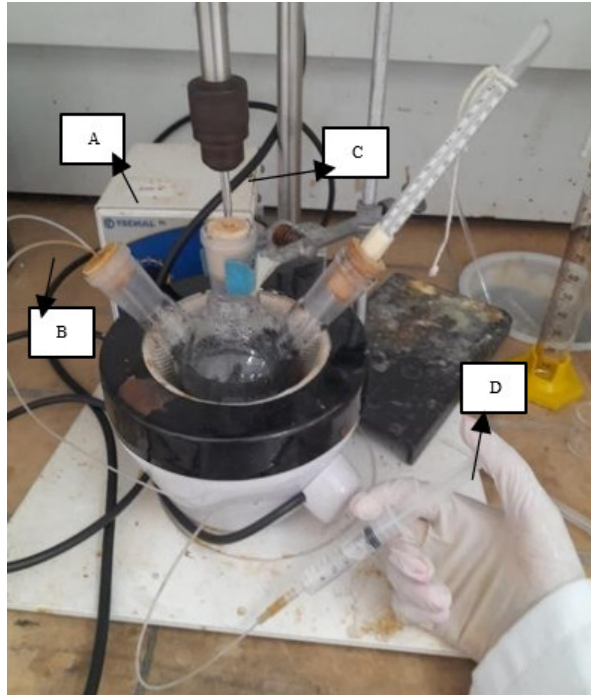
<b>Parâmetros</b>	<b>Valores</b>
Vazão da bomba	1,2 mL min <sup>-1</sup>
Volume de amostra injetado	20 µL
Comprimento de onda	210 nm
Temperatura do forno	40°C

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

### 4.3. SÍNTESE

A síntese do material foi feita em quatro etapas. Primeiro ocorreu a síntese das nanopartículas magnéticas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> por co-precipitação. Em seguida as partículas foram tratadas com TEOS para estabilização, resultando em partículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS, e após, com MPS para disponibilização de grupo vinílico polimerizável, resultado em partículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS@MPS. Por fim, o polímero foi sintetizado sobre as partículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS@MPS.

A primeira etapa de síntese foi realizada segundo protocolo de Franqui *et al.* (2015), com algumas modificações. As nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> foram inicialmente sintetizadas pelo método de co-precipitação. Inicialmente, dentro de um balão de três bocas foram dissolvidos em aproximadamente 50mL de água Milli-Q, 15 mmol de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O e 10 mmol de FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O. A Fotografia 2 representa a reação que foi mantida em agitação vigorosa por 30 min a 80°C, foram gotejados 50mL de solução de hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH) 28% (v/v) sob fluxo de N<sub>2</sub>.

Fotografia 2 – Etapa de síntese das nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 

Fonte: Autor (2024).

Legenda: a) aquecimento.

b) fluxo de  $\text{N}_2$ .

c) agitação.

d) gotejamento de  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

Após o tempo requerido, o precipitado negro foi lavado com água Milli-Q, com o auxílio de um ímã, até que o pH do sobrenadante chegasse a 6 (Fotografia 3). Para secar o material coletado, este foi mantido em estufa a  $60^\circ\text{C}$  por 24h.

Fotografia 3 – Lavagem do material



Fonte: Autor (2024).

A segunda etapa se deu de acordo com o trabalho de Zeng *et al.* (2012) utilizando 600 mg de nanopartículas magnéticas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  em 60 mL de uma solução

isopropanol:água Milli-Q (5:1, v/v). A suspensão foi sonicada por 20 min com intuito de dispersar as nanopartículas. Em seguida foram adicionados ao tubo (ainda dentro do banho ultrassônico), 10 mL de solução de hidróxido de amônio 28% e 4 mL de TEOS. Sob agitação mecânica constante a reação foi mantida por 12h (Fotografia 4). Por fim as nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$  foram coletadas com imã externo, lavadas até o sobrenadante atingir pH entre 6,5 e 7,5 e secas em estufa a  $60^\circ\text{C}$  por 24h.

Fotografia 4 – Agitação mecânica horizontal



Fonte: Autor (2024).

A terceira etapa foi a de funcionalização das nanopartículas que seguiu o trabalho de Mendes (2018) com algumas modificações, em que 200 mg de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$  foram depositadas em tubo contendo 50 mL de MeOH e sonicadas por 30 min. Após 25 min, 3 mL de MPS foram gotejados dentro do tubo. A reação, sob agitação constante, foi mantida por 48h sob agitação constante. Após, as nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@MPS$  foram coletadas com ímã e lavados com MeOH até que o sobrenadante ficasse límpido. Por fim, o material ficou em estufa a  $60^\circ\text{C}$  por 24h.

A síntese final foi conduzida pela metodologia de polimerização por precipitação de acordo com o trabalho de Franqui *et al.* (2015) com algumas adaptações. Para essa etapa foram utilizados 2, mmol do monômero funcional (MAA) em 20 mL de solvente (ACN) em um frasco enquanto 489 mg de nanopartículas magnéticas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@MPS$  foram adicionadas a outro frasco (frasco de

síntese) contendo mais 20 mL de acetonitrila. Os frascos foram colocados simultaneamente em banho ultrassônico por 40 min. Em seguida, a solução contendo MAA foi adicionada no frasco de síntese e foram adicionados 12,0 mmol do agente de ligação cruzada (EGDMA) e 80,0 mg do iniciador radicalar (ABCVA).

A mistura resultante reacional foi mantida no ultrassom por 30 min e em seguida, para eliminação do oxigênio presente no meio, foi purgada com N<sub>2</sub> por 15min (Fotografia 5). Em seguida o frasco de síntese foi selado e ficou imerso em banho-maria a 75°C, sob agitação mecânica por 24h, para a completa reação de polimerização (Fotografia 6).

Fotografia 5 – Mistura purgada com N<sub>2</sub>



Fonte: Autor (2024).

Fotografia 6 – Etapa de polimerização



Fonte: Autor (2025).

Após a polimerização, o material resultante foi coletado com ímã e lavado três vezes com MeOH:ácido acético (9:1 v/v) e depois lavado com MeOH puro para remoção dos resquícios de ácido acético. Por fim, as partículas foram secas a 60°C por 24h. O material final obtido foi condicionado em tubo falcon para posteriores análises. Após utilização do material para extração o mesmo pode ser lavado novamente com MeOH puro e água para reuso.

#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO

Para verificar a eficácia da síntese do material, foram feitos os testes de FT-IR; microscopia eletrônica de varredura (MEV); potencial zeta; análise térmica e estudos de cinética e isoterma de adsorção.

##### 4.4.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

A análise de caracterização por FT-IR foi realizada por espectrofotômetro IR System Shimadzu® Prestige 21. Para as análises 5 mg dos 4 materiais obtidos na síntese foram adicionadas ao equipamento misturada com partículas de KBr para formar a pastilha analisada. As leituras foram operadas no modo de transmitância, obtidas na região de intervalo 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e resolução espectral de 4 $\text{cm}^{-1}$ , e os espectros foram obtidos com 34 varredura. Além disso, uma pastilha branco foi usada para a correção do background.

#### 4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura Philips XL-30 FEG (Field Emission Gun) com um canhão de emissão de elétrons de efeito de campo (FEG-SEM), trabalhando em 10 a 25 keV, ponto 4 e distância 5 mm.

Inicialmente, uma gota da suspensão da amostra ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ) foi adicionada em um eppendorf juntamente com 2 mL de isopropanol. O eppendorf foi colocado em um banho de ultrassom por 10 min para desagregar as partículas. Uma pequena gota com a dispersão das partículas, foi colocado no substrato de silício ou alumínio de uma área de 5 mm x 5 mm e colada ao tubo usando fita de carbono dupla face. As amostras foram secas em uma estufa a 40 °C por 12 h.

A análise usando um detector de raios X dispersivo de energia 2D foi realizada a 25 keV e ponto 4. As imagens 2D por Espectroscopia por energia dispersiva (*Energy Dispersive Spectroscopy*: EDS) foram geradas com base na energia liberada pela emissão de Si K $\alpha$ , Fe K $\alpha$ , O L $\alpha$ 1, C L $\alpha$ 1 e Al L $\alpha$ 1.

#### 4.4.3 Potencial zeta

A análise do potencial zeta foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Sistemas de Liberação de Fármacos (LSLF, UNIFAL-MG). Foram testados os materiais utilizando 1 mL de uma suspensão aquosa na concentração de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$ . A análise (n=3) foram realizadas para a faixa de pH de 2 a 10. As soluções foram posicionadas no equipamento utilizando cubeta apropriada.

#### 4.4.4 Análises térmicas

Para análise térmica, os efeitos da energia térmica dos materiais foram avaliados por calorimetria diferencial de varredura (*Differential scanning calorimetry*: DSC) e termogravimetria (TG). Curvas de TG foram derivadas em 1ª ordem para confirmar os fenômenos térmicos. Uma célula Shimadzu DSC60 plus, calibrada com Índio (Tonset = 156,63 °C,  $\Delta H_m = 28,45 \text{ J.g}^{-1}$ ) foi usada sob atmosfera dinâmica de nitrogênio a  $50 \text{ mL min}^{-1}$ , taxa de aquecimento de  $10 \text{ °C min}^{-1}$ , na faixa de 30 a 400 °C. Cadinho em alumínio fechado e uma massa de amostra de 2,0 mg foram utilizados. As curvas de TG foram obtidas na termobalança Shimadzu DTG60H em

atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de  $50 \text{ mL min}^{-1}$ , na faixa de 30 a  $600 \text{ }^\circ\text{C}$  (TG) e 20 a  $400^\circ\text{C}$  (DSC), e massa de amostra de 2,5 mg foram usados.

#### 4.5 PREPARO DE AMOSTRA E DILUIÇÃO DA SALIVA

As análises de diluição da amostra de saliva se deram a partir de um *pool* de amostra ( $n=3$ ), a fim de melhorar a administração e o rendimento das amostras coletadas, bem como diminuir inteferentes da matriz. Os participantes foram devidamente abordados pelo pesquisador principal, no Laboratório de Toxicantes e Fármacos (LATF), sala D (301) da UNIFAL-MG. Vale ressaltar que os participantes foram informados sobre o conteúdo da pesquisa, bem como o procedimento de coleta, devendo estes assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A). A coleta foi realizada mediante aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIFAL-MG, protocolo número 66265322.7.0000.5142.

Aproximadamente 10 mL de amostras de saliva foram coletadas, em tubos Falcon estéreis, de voluntários saudáveis ( $n=3$ ) que não relataram uso de PB, PHT, CBZ, PRM e HD. As amostras foram armazenadas em refrigerador ( $2\text{-}4^\circ\text{C}$ ) por no máximo 3 dias até a análise. A saliva pura foi então diluída em água Milli-Q nas diluições 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4 (v/v). Em eppendorf foram pesados 5 mg do M-CP e adicionado 1 mL de saliva diluída e fortificada com os fármacos em concentração de  $3 \text{ mg L}^{-1}$ . Após 1 min de agitação de cada tubo, o sobrenadante foi separado do material (com auxílio de um ímã), e coletado para análise cromatográfica. Por fim, para determinação da melhor diluição da saliva, foram analisados os resultados de área de pico de cada fármaco.

O preparo de amostra para as análises se deu utilizando 2 mL de saliva em eppendorf em contato com o M-CP e com padrões dos fármacos em concentração de  $8 \text{ mg L}^{-1}$ . A amostra ficou em agitação vertical por 1 hora e em seguida o sobrenadante foi descartado com auxílio de um ímã. 1 mL de FM foi adicionado para a etapa de eluição e a amostra foi agitada por 1 hora. O material foi separado utilizando o magneto e o sobrenadante condicionado em vial para análise cromatográfica.

#### 4.6 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DOS ANTICONVULSIVANTES EM SALIVA

Um delineamento rotativo composto central (*Central composite rotatable design*: CCRD) com três pontos centrais, totalizando experimentos para investigar o efeito de três variáveis independentes: pH (3,48 - 8,52), volume da amostra (0,66 - 2,34 mL) e massa de M-CP (4,95 - 15,05 mg) na extração simultânea dos quatro anticonvulsivantes (PB, PHT, CBZ, PRM) da saliva (Tabela 7).

Tabela 7 – Fatores otimizados para extração

Experimento (n)	pH	Volume (mL)	Massa (mg)
1	4,5	1,0	7,0
2	7,5	1,0	7,0
3	4,5	2,0	7,0
4	7,5	2,0	7,0
5	4,5	1,0	13,0
6	7,5	1,0	13,0
7	4,5	2,0	13,0
8	7,5	2,0	13,0
9	3,48	1,50	10,0
10	8,52	1,5	10,0
11	6,0	0,66	10,0
12	6,0	2,34	10,0
13	6,0	1,5	4,95
14	6,0	1,5	15,05
15	6,0	1,5	10,0
16	6,0	1,5	10,0
17	6,0	1,5	10,0

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

Em relação ao procedimento experimental do CCRD, inicialmente um *pool* de 10 mL de saliva foi diluído em água ultrapura (1:3 v:v) e adicionado em balão volumétrico contendo 8 mg L<sup>-1</sup> de cada AC. A variável resposta obtida foi a recuperação (%) de cada AC obtido pela Eq. (14):

$$Rc = 100 \times \frac{PA_{rec}}{PA_{std}} \quad (14)$$

onde  $R_c$  é a recuperação do anticonvulsivante (%),  $PA_{rec}$  é a área de pico recuperada e  $PA_{std}$  é a área de pico do padrão anticonvulsivante.

Uma estratégia comum em problemas de otimização de múltiplas respostas é o uso de uma metodologia multicritério. Entre essas metodologias, a função de desejabilidade proposta por Derringer e Suich em 1980 é uma das mais amplamente utilizadas. A estratégia consiste em transformar as respostas em uma função de desejabilidade individual ( $d_i$ ) e combinar as funções de desejabilidade individuais em uma função de desejabilidade global ( $d_g$ ), que pode ser otimizada por técnicas univariadas. Mais detalhes sobre o uso da função de desejabilidade podem ser encontrados em Nandi; Pardasad; Gupta (2015).

Os dados foram analisados usando o R Computational System para ajustar o polinômio de segunda ordem. As análises estatísticas foram realizadas com nível de significância de 5%, ou seja,  $p < 0,05$  (Core team, 2021).

## 4.7 ESTUDOS DE ADSORÇÃO

Para os estudos de cinética e isoterma de adsorção, o PB foi o fármaco utilizado devido à sua maior solubilidade em água dentre os demais analisados neste estudo.

### 4.7.1 Cinética de adsorção

Para a análise da cinética de adsorção, 5 mg de M-CP e 1 mL de solução de PB ( $5 \text{ mg L}^{-1}$  preparada em água ultrapura (pH 5,78) foram adicionados em tubos eppendorf agitados em agitador vertical a 1.000 rpm por 0,5, 1, 3, 5, 7, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 180 min (à temperatura ambiente). O M-CP foi separado com um ímã e o PB restante no sobrenadante (concentração de equilíbrio,  $C_e$ , em  $\text{mg L}^{-1}$ ) foi analisado. A capacidade adsortiva  $q_e$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) para cada tempo foi calculada usando a Eq. (15).

$$q_e = [(C_o - C_e)/m] \times V \quad (15)$$

em que  $C_o$  e  $C_e$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ) representam a concentração inicial e a concentração de equilíbrio de PB,  $m$  como a massa de M-CP (g) e  $V$  (L) o volume da solução. Os dados foram ajustados aos modelos não lineares de Pseudo-primeira ordem (PPO), Pseudo-segunda ordem (PSO), Ordem fracionária (Avrami), Elovich (quimissorção) e modelo

de adsorção por difusão intrapartícula (Tan, 2017).

#### 4.7.2 Isoterma de adsorção

Para as análises de isoterma, 1 mL de solução de PB nas concentrações de 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 70, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup> (preparada em água ultrapura, pH 5,78) foi adicionado individualmente a tubos eppendorf contendo 5 mg de M-CP. Os tubos foram agitados por 1 h, o M-CP foi separado com um ímã e o PB foi analisado. O *q<sub>e</sub>* foi obtido de acordo com a Equação 15. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata.

Os dados foram ajustados a modelos de isoterma não linear. Os modelos de isoterma de dois parâmetros avaliados foram os modelos Langmuir, Freundlich, Dubinin-Raduschekevich, Temkin, Elovich, Harkins-Jura, Jovanovic. Os modelos de isoterma de três parâmetros foram os modelos Sips, Koble-Corrigan, Radke-Prausnitz, Toth, Redlich-Peterson, Langmuir-Freudlich e Hill.

Os modelos de adsorção não linear foram ajustados com a função *nls* disponível no R Computational System. As seleções dos modelos cinéticos e isotérmicos foram baseadas em de Carvalho (2024) na seguinte ordem: significância dos parâmetros, suposições básicas da regressão não linear e informações de critérios. Para a avaliação dos pressupostos, os resíduos foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk), independência (teste de Box-Pearce) e homoscedasticidade da variância (teste de Breusch-Pagan). Os critérios analisados foram o critério de informação de Akaike corrigido (AICc), o critério de informação de Akaike (AIC) e o critério de informação bayesiano (BIC).

#### 4.8 VALIDAÇÃO ANALÍTICA

A validação do método proposto para a determinação dos fármacos foi realizada para fins de viabilidade e otimização do método avaliando os parâmetros de linearidade, precisão e exatidão. As curvas de calibração (n=3) foram construídas usando um *pool* de saliva diluída (1:3 v:v) e fortificada com PRM, PB, PHT, CBZ e HD. As concentrações variaram de 2, 5, 10, 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> para PRM e PB, 1, 2, 5, 10 e 20 mg L<sup>-1</sup> para PHT e 1, 2, 5, 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> para CBZ. Já a hidantoína foi mantida em 5 mg L<sup>-1</sup>.

A linearidade foi avaliada por meio da construção de curvas de calibração

utilizando a área relativa do analito em função da concentração. As faixas de trabalho foram selecionadas para abranger os níveis esperados de detecção utilizados rotineiramente. Os dados foram ajustados ao modelo linear e o coeficiente de correlação ( $R^2$ ) foi considerado adequado quando igual ou superior a 0,99 (Anvisa, 2017). A precisão foi avaliada por pelo Desvio Padrão Relativo (DPR%) como na Equação 16, das áreas relativas de acordo com cada uma das concentrações e a exatidão, pelo erro relativo (ER%) calculado pela Equação 17 e seguindo o guia de validação (Fda, 2001). Nas equações estão presentes  $DP$  como desvio padrão,  $X$  a média das observações, enquanto  $CC$  representa a concentração calculada pelas respostas (área relativa) e  $CN$  a concentração nominal.

$$DRP(\%) = \frac{DP}{x} \times 100 \quad (16)$$

$$ER(\%) = \frac{CC - CN}{CN} \times 100 \quad (17)$$

## 5 RESULTADOS

### 5.1 SÍNTESE

Inicialmente, a síntese se deu pela formação da magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) formada pela reação entre o íon  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , em meio alcalino (Golmohammad *et al.*, 2022). A magnetita formada foi então revestida com TEOS, um organoalcoxissilano precursor para síntese de sílica coloidal. As ligações Si-O-Si são formadas por condensação quando utilizado um álcool capaz de homogeneizar o TEOS em água, e um catalisador ácido ou básico para agir como catalisador da hidrólise (Almeida, 2008). Essas ligações são capazes de eliminar álcool na reação entre TEOS (-SiOR) e um silanol (-SiOH) bem como liberação de  $\text{H}_2\text{O}$  quando a reação ocorre entre dois silanóis (Almeida, 2008). Quando TEOS foi utilizado na síntese do material final, ocorreram reações de hidrólise e condensação deste em solução aquosa de isopropanol, junto de hidróxido de amônia. De acordo com a metodologia aplicada, esse fenômeno resulta em uma rede polimérica de silanóis ligados a superfície da nanopartícula magnética, melhorando a estrutura física das nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  por diminuição da atração dipolar entre elas quando em meio líquido (Brinker; Scherer, 1990).

A etapa de funcionalização com MPS foi favorecida pela presença dos grupos presentes na superfície do material após etapas anteriores devido a facilidade de ligação a vários grupamentos químicos. A utilização do MPS na síntese se justifica por estabelecer adesão entre a fase com os silanóis e o polímero, formando adesão silânica (Si-O-Si) na superfície da nanopartícula magnética (Reis, 2006).

Ao final das etapas supracitadas, incluindo a lavagem por separação magnética do material, obteve-se uma massa final de aproximadamente 110 mg de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@\text{MPS}$ . A última etapa (polimerização) envolveu o uso do material previamente sintetizado com MPS como núcleo magnético do polímero. A síntese resultou em aproximadamente 200 mg de M-CP com suas devidas propriedades magnéticas, mesmo ao final de todas as etapas, como pode ser observado na Fotografia 7 em que o material está sendo atraído pelo ímã na parede do tubo de ensaio. É possível analisar, pela Fotografia 8, que o material formado na primeira etapa de síntese é mais escuro que os outros (cor preta). A segunda etapa, sendo a magnetita revestida com TEOS, o material se tornou mais claro (bege como cor de areia) e por fim, nas duas últimas etapas os materiais formados apresentaram

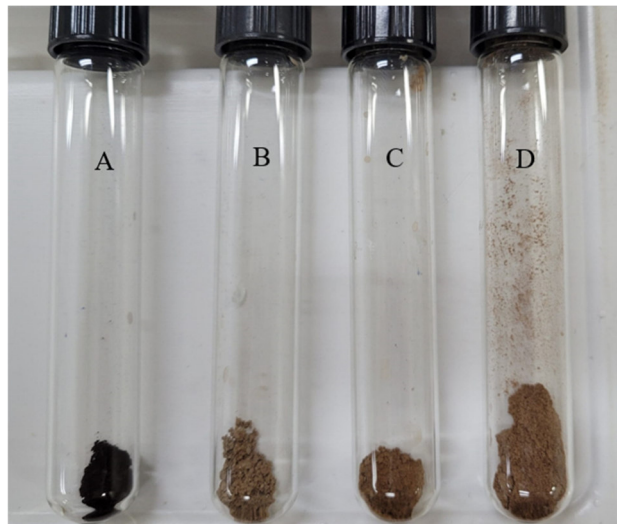
coloração terrosa. O material final sintetizado, após análises, foi lavado com água Milli-Q e MeOH e reutilizado no máximo três vezes, sem perda da capacidade adsortiva.

Fotografia 7 – Lavagem do M-CP



Fonte: Autor (2024).

Fotografia 8 – Materiais formados nas etapas de síntese



Fonte: Autor (2025).

Legenda: a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .  
b)  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS.  
c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS@MPS.  
d) M-CP.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO

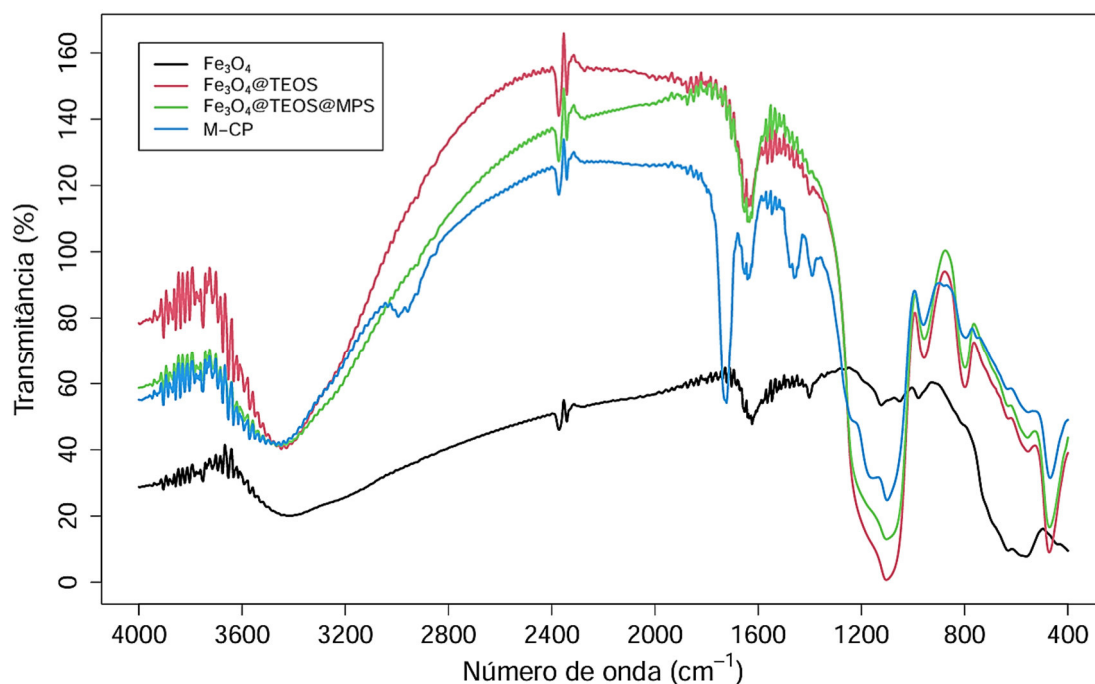
### 5.2.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Os materiais foram analisados por essa técnica a fim de inferir sobre a síntese da magnetita, os revestimentos feitos na partícula magnética e a polimerização envolvida na síntese pela identificação dos grupos funcionais orgânicos presentes na superfície dos materiais. A Figura 5 apresenta o espectro de infravermelho dos materiais obtidos em cada uma das 4 etapas de síntese.

Inicialmente, a banda em  $600\text{-}580\text{ cm}^{-1}$  é atribuída às ligações Fe-O, observadas apenas em materiais poliméricos magnéticos. Esta banda indica que a primeira síntese (nanopartículas de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) foi bem-sucedida. Em  $950$ ,  $800$  e  $478\text{ cm}^{-1}$ , ela caracteriza as vibrações de estiramento envolvendo silício e oxigênio pelas ligações Si-O-Si, Si-O-H e Si-O, respectivamente, e assim confirma o revestimento eficiente das partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  com TEOS e MPS (Gupta, 2012; Andrade, 2009).

Em aproximadamente  $1600\text{ cm}^{-1}$ , é possível observar bandas curtas devido às vibrações C-C e a banda entre  $1250 - 1263\text{ cm}^{-1}$  refere-se ao grupo C-O e possivelmente à vibração de estiramento C-O decorrente dos ésteres presentes no EGDMA usado na síntese (Gupta 2012; Fayazi, 2015). Além disso, a banda em aproximadamente  $1720\text{ cm}^{-1}$  presente em M-CP pode ser atribuída ao alongamento C=O no ácido metacrílico completando uma polimerização bem-sucedida. Por fim, a banda em torno de  $3400\text{ cm}^{-1}$  provém do estiramento O-H. (Fayazi, 2015; de Oliveira, 2013; Corazza, 2014).

Figura 5 – Espectros FT-IR dos materiais sintetizados

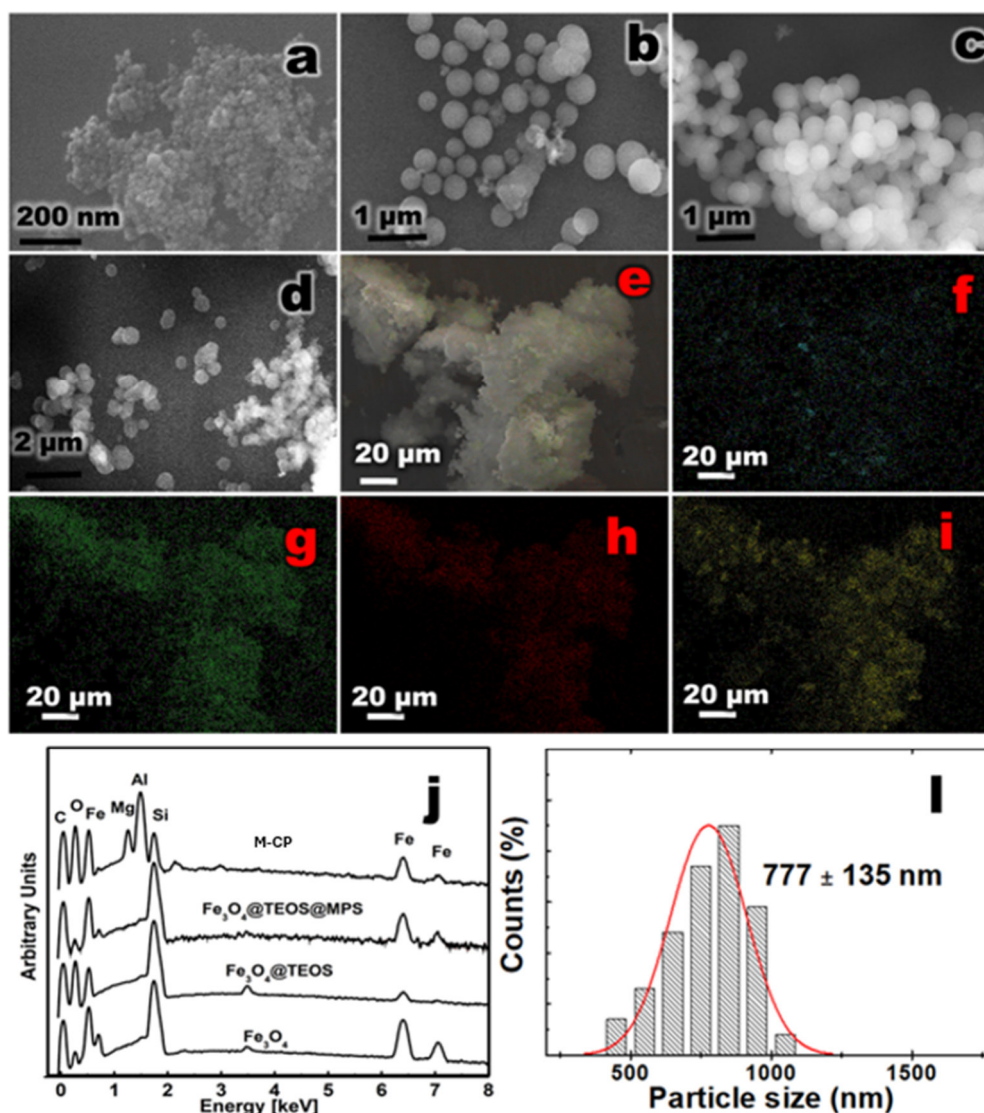


Fonte: Autor (2025).

### 5.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Por meio dessa técnica, é possível visualizar a morfologia do material explorado com um feixe de elétrons. As imagens fornecidas pelo MEV têm uma aparência tridimensional virtual, resultante da grande profundidade de campo e foco (Faraji; Yamin; Rezaee, 2010; Dedavid, 2007). Aspectos morfológicos e estruturais de todos os materiais (nanopartículas de  $\text{F}_3\text{O}_4$ ,  $\text{F}_3\text{O}_4@$ TEOS,  $\text{F}_3\text{O}_4@$ TEOS@MPS e M-CP) são apresentados na Figura 6.

Figura 6 – Imagens de MEV dos materiais sintetizados



Fonte: Autor (2025).

Legenda:

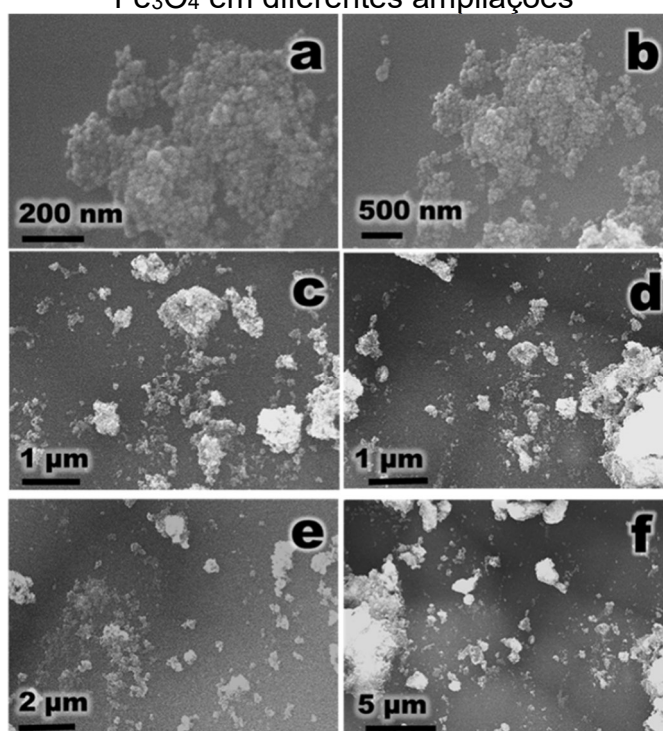
- a) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.
- b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS.
- c) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS@MPS.
- d) M-CP.
- e) EDS em 2D do M-CP em (e) MEV, (f) Fe K.

A análise das nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (Figura 6a) mostrou que elas têm tamanhos individuais menores que 15,4 nm, mas apresentam tendência a formar aglomerados maiores que 1 μm. Também mostraram que os aglomerados de nanopartículas magnéticas estavam distribuídos pela amostra.

As imagens na Figura 7 mostraram que os aglomerados de nanopartículas magnéticas eram semelhantes a trabalhos já publicados (Bayramoglu, 2008; Kubkova, 2014; Nunes, 2006). As imagens de MEV também demonstraram o tamanho homogêneo das partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS (Figura 6b). O histograma da imagem de MEV (Figura 8f) indicou um diâmetro de partícula de  $440 \pm 100$  nm. A distribuição homogênea das nanopartículas de magnetita sugeriu que as partículas estavam devidamente dispersas no material, sem concentração excessiva em áreas específicas. As figuras da análise de EDS do  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS (Figura 9) revelou a presença de oxigênio (O) e ferro (Fe) provenientes das nanopartículas de magnetita (manchas verdes e turquesa, respectivamente).

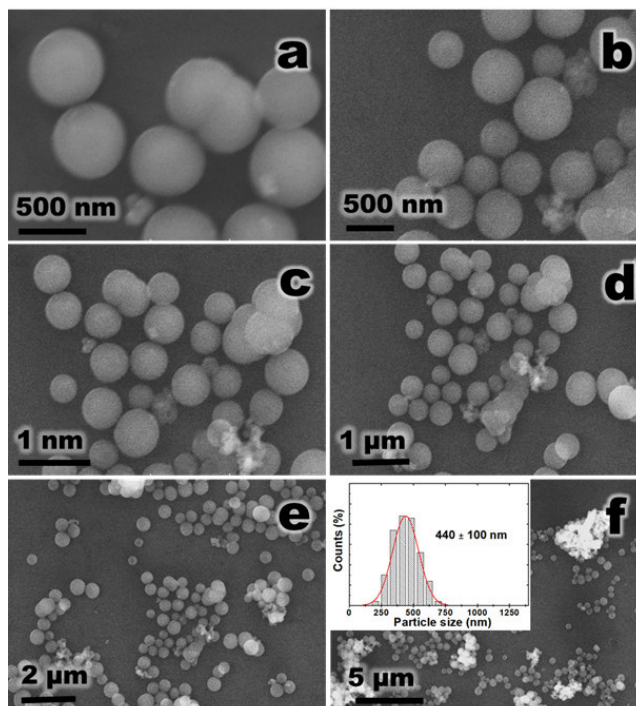
As imagens em 2D foram geradas analisando a energia liberada pelo Fe K $\alpha$  (constituintes do material de magnetita) (Figura 9b), bem como as emissões de O K $\alpha$  (Figura 9c), indicando a distribuição uniforme desses elementos na área demarcada na micrografia. As imagens MEV não conseguem distinguir o tamanho das partículas de magnetita devido à proximidade, mas a análise do espectro EDS confirma a presença de óxido de ferro em  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS. O espectro EDS de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS@MPS exibe composições semelhantes, com emissões de átomos de O e Fe.

Figura 7 – Imagens de MEV das nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  em diferentes ampliações



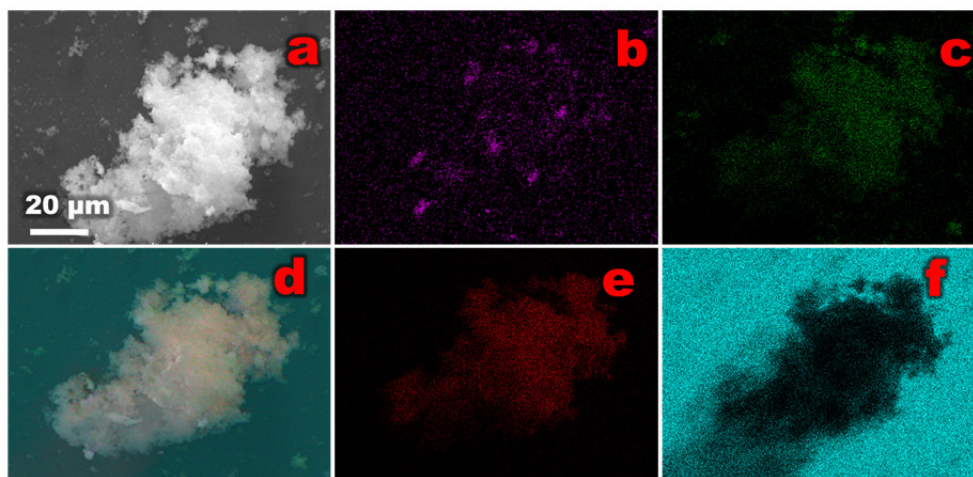
Fonte: Autor (2025).

Figura 8 – Imagens de MEV das nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$  em diferentes ampliações



Fonte: Autor (2025).

Figura 9 – Imagens de MEV e mapeamento EDS em 2D dos elementos silicone-substrato (azul), ferro (magenta) e oxigênio (verde) em  $\text{F}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$ .



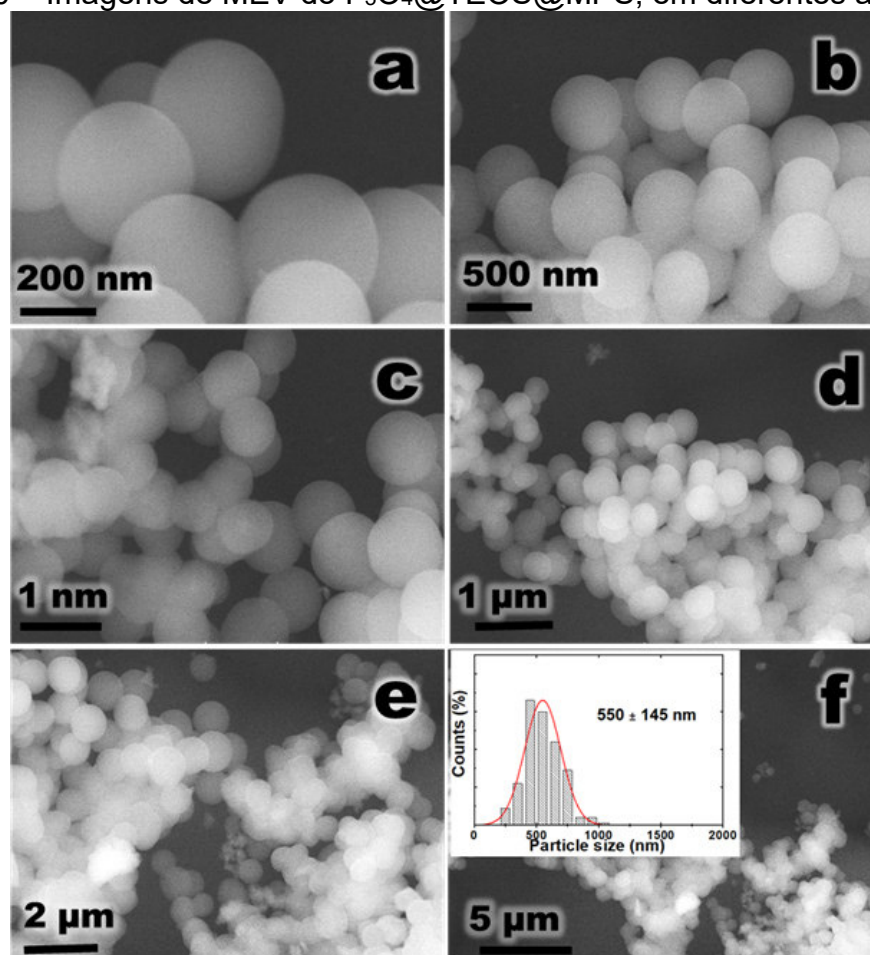
Fonte: Autor (2025).

Legenda:

- a) Imagem MEV.
- b) Fe K K $\alpha$ .
- c) O L $\alpha$ 1.
- d) Imagem “a” colorida.
- e) C K $\alpha$
- f) Si K $\alpha$ .

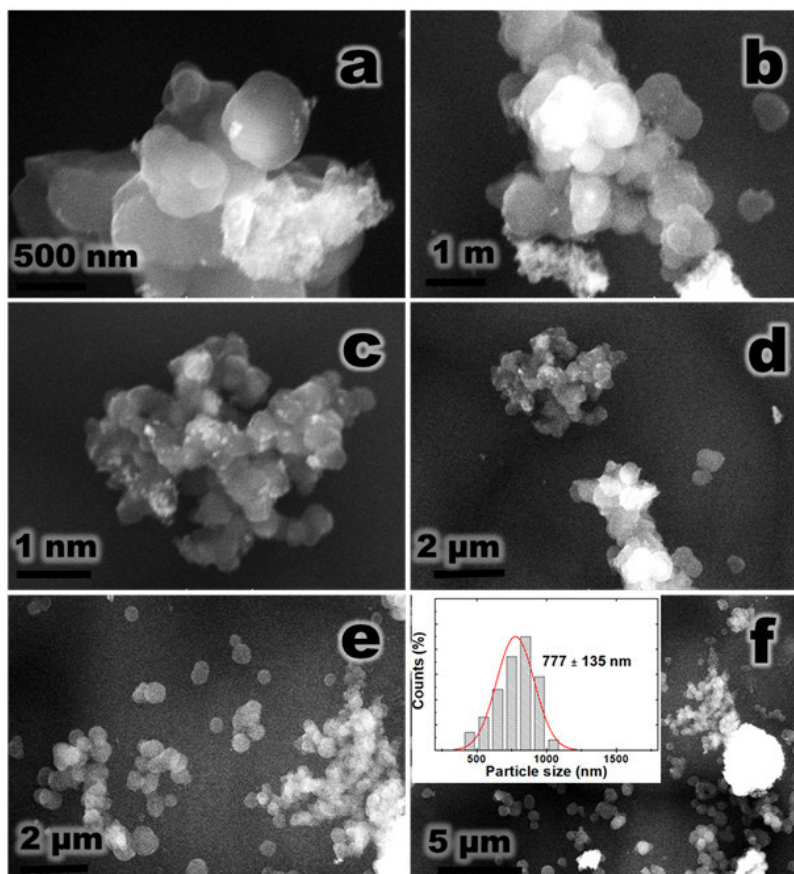
As imagens MEV demonstraram o tamanho de partícula homogêneo de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@MPS$  (Figura 6c e 10). O histograma indicou um diâmetro de partícula de  $550 \pm 145$  nm. A incorporação de MPS no processo de síntese teve um impacto significativo no tamanho médio da partícula de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@MPS$  com aumento de 21% no tamanho dessas partículas em comparação com o das partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$ . As amostras de M-CP (Figuras 6d e 11), indicaram que a polimerização alterou o tamanho das partículas e agregados. Um aumento de 29% no tamanho dessas partículas foi observado em comparação com o das partículas sintetizadas na etapa anterior.

Figura 10 – Imagens de MEV do  $\text{F}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@MPS$ , em diferentes ampliações



Fonte: Autor (2025).

Figura 11 – Imagens de MEV do M-CP, em diferentes ampliações



Fonte: Autor (2025).

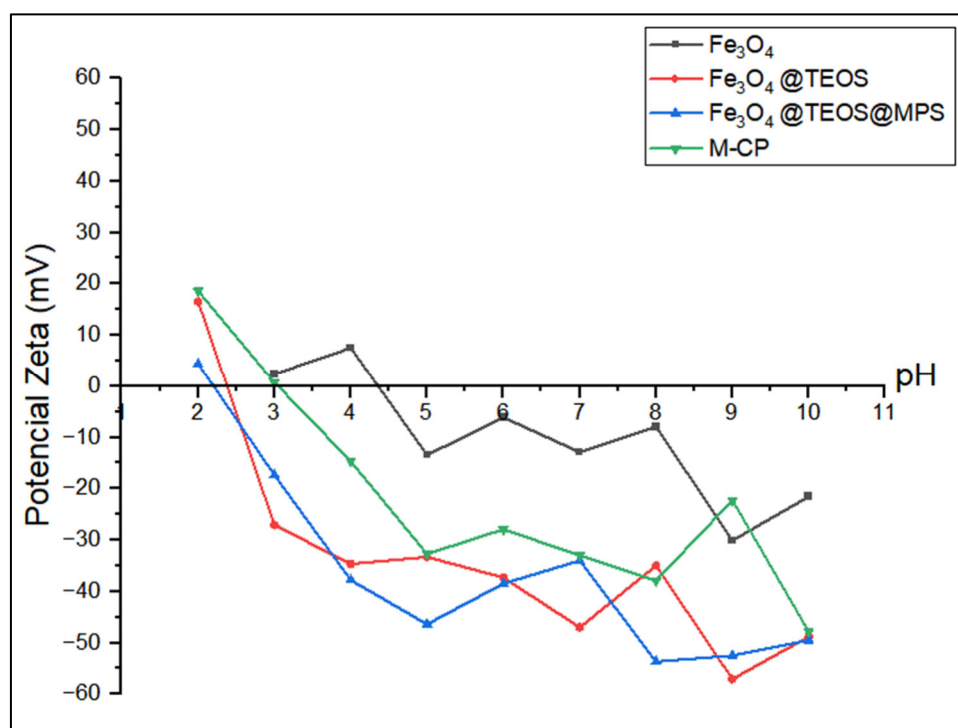
### 5.2.3 Potencial zeta

Como pode ser visto no Quadro 1, o ponto isoelétrico foi estimado em aproximadamente 4,5; 2,5; 2,3; e 3 para as nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@$ MPS e M-CP respectivamente. Em pH maior que o ponto isoelétrico, todos os materiais apresentaram potencial zeta negativo.

Analisando os valores de potencial zeta, é possível observar que a magnetita teve variação de carga entre 3 e -30 mV. Observando a linha verde, é possível correlacionar que a adsorção de fármacos por M-CP poderá ser mais bem sucedida na faixa de pH de 5 a 8, devido à maior estabilidade das dispersões de nanopartículas em valores de potencial zeta maiores que  $\pm 30$  mV (Dutta, 2016). É possível concluir através do Quadro, que uma melhor adsorção dos fármacos provavelmente ocorrerá em pH acima de  $pI$  e abaixo do  $pK_a$  dos analitos por serem compostos mais neutros e levemente básicos e serão ionizados nessa condição.

Esta ionização favorece a interação eletrostática entre as moléculas na superfície e o alvo do M-CP. Além disso, a adsorção em pH mais neutro seria mais apropriada devido à variabilidade ácida e básica entre os fármacos analisados.

Quadro 1 – Variação da carga superficial de acordo com o pH para o M-CP

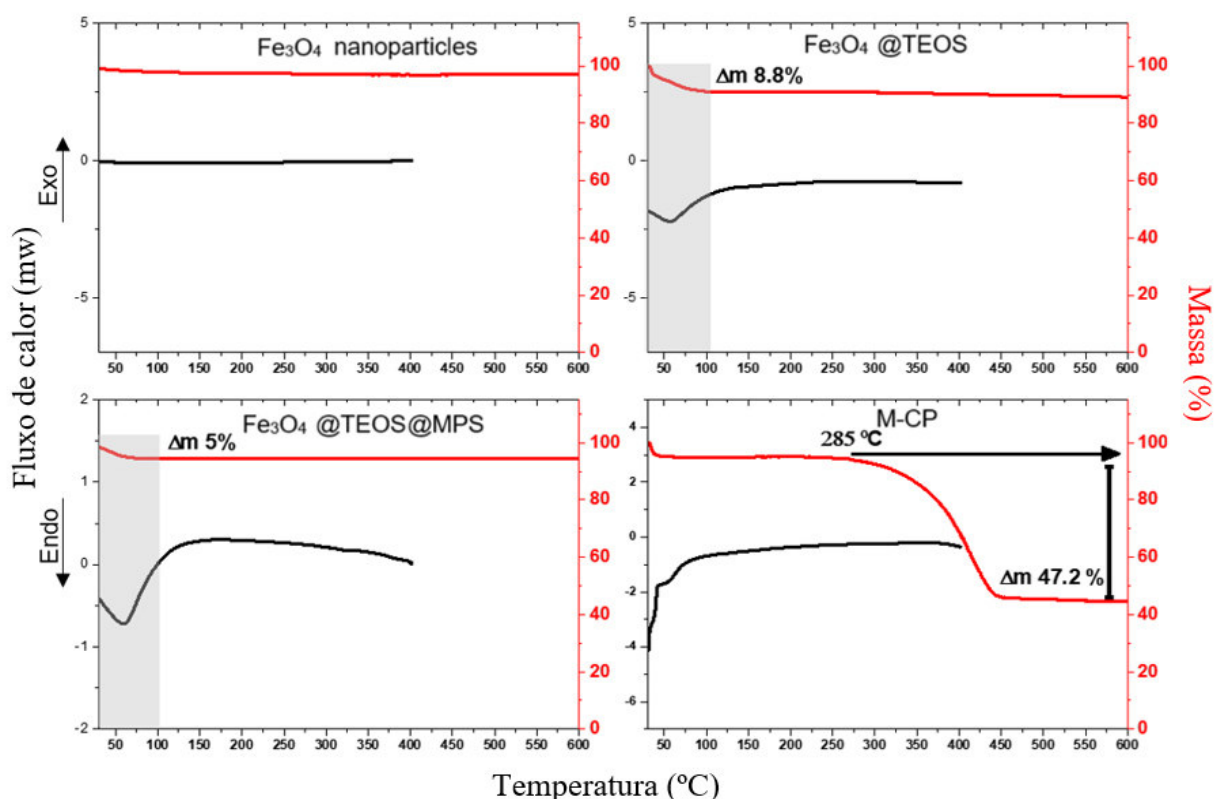


Fonte: Autor (2025).

#### 5.2.4 Análises térmicas

As análises termogravimétricas são apresentadas na Figura 12. As nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> são um material inorgânico com estabilidade térmica muito alta, e uma perda de apenas 2,2% de massa foi notada até 600 °C, provavelmente devido a uma pequena perda de óxido ou solventes da amostra. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS e Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@TEOS@MPS perderam 8 e 5% de massa até aproximadamente 133 e 100 °C, respectivamente, devido à volatilização de resíduos da síntese (isopropanol e água). O M-CP perdeu 4,3% de sua massa até 60 °C devido aos resíduos de solvente, e 48% entre 300 °C e 465 °C, provavelmente atribuído à sua fração polimérica. Os 52% restantes de massa podem ser atribuídos à estabilidade do TEOS e da magnetita presentes no material.

Figura 12 – Comportamento térmico das amostras



Fonte: Autor (2025)

Nota: linha preta referente a avaliação por DSC e vermelha por TG.

### 5.3 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE ACS NA SALIVA

Com os dados do planejamento e da desejabilidade global (Tabela 8), ajustaram-se os modelos de regressão múltipla. Inicialmente ajustou-se o modelo geral, o qual contém todos os termos de primeiro e segundo grau e todas as interações entre as variáveis do estudo para os quatro fármacos e a desejabilidade (d) de cada um.

A análise de variância do modelo geral é apresentada na Tabela 9 em que se pode observar que apenas os componentes de primeiro grau do modelo associadas às variáveis volume de amostra (mL) e massa de M-CP (mg) e a de segundo grau associada ao pH foram significativas. Por isso o modelo foi recalculado sem os termos não significativos, sendo a análise de variância apresentada na Tabela 10.

Tabela 8 – Planejamento experimental e dados de desejabilidade individual e global para o estudo dos fármacos em M-CP

pH	volume	massa	dcbz	dpht	dpb	dprm	dglobal
4,5	1,00	7,00	0,49	0,51	0,18	0,15	0,29
7,5	1,00	7,00	0,33	0,37	0,28	0,15	0,27
4,5	2,00	7,00	0,96	0,97	0,70	0,28	0,65
7,5	2,00	7,00	0,89	0,85	0,33	0,27	0,51
4,5	1,00	13,00	0,29	0,35	0,47	0,49	0,39
7,5	1,00	13,00	0,31	0,30	0,39	0,57	0,38
4,5	2,00	13,00	1,00	1,00	1,00	0,86	0,96
7,5	2,00	13,00	0,84	0,85	0,71	0,68	0,77
3,48	1,5	10,00	0,31	0,39	0,31	0,01	0,13
8,52	1,5	10,00	0,35	0,43	0,23	0,01	0,13
6,00	0,66	10,00	0,00	0,00	0,42	0,24	0,00
6,00	2,34	10,00	0,91	0,77	0,72	0,57	0,73
6,00	1,5	4,95	0,46	0,42	0,30	0,00	0,00
6,00	1,5	15,05	0,63	0,52	0,66	1,00	0,68
6,00	1,5	10,00	0,60	0,51	0,56	0,6	0,57
6,00	1,5	10,00	0,62	0,60	0,59	0,62	0,61
6,00	1,5	10,00	0,48	0,41	0,46	0,62	0,48

Fonte: Elaborada pelo Autor (2025).

Tabela 9 – Análise de variância do modelo geral para adsorção em M-CP

Fonte	gl	SQ	MQ	F	Valor-p
modelo	9	0,981	0,275	2,776	0,0960
x1	1	0,010	0,010	2,529	0,2527
x2	1	0,576	0,576	150,012	0,0066**
x3	1	0,271	0,271	70,728	0,0138*
x1 <sup>2</sup>	1	0,094	0,094	24,405	0,0386*
x2 <sup>2</sup>	1	9x10 <sup>-5</sup>	9x10 <sup>-5</sup>	0,024	0,8918
x3 <sup>2</sup>	1	0,003	0,003	0,793	0,4673
x1:x2	1	0,012	0,012	3,047	0,2230
x1:x3	1	3,2x10 <sup>-5</sup>	3,2x10 <sup>-5</sup>	0,082	0,8010
x2:x3	1	0,015	0,015	3,980	0,1842
Resíduos	7	0,275	0,039		
Falta de ajuste	5	0,267	0,053	13,922	0,0684
Erro puro	2	0,008	0,004		

Fonte: Elaborada pelo Autor (2025).

Legenda: \* Significativo a 5%, \*\* Significativo a 1%. x<sub>1</sub>: pH, x<sub>2</sub>: volume de amostra (mL), x<sub>3</sub>: massa de M-CP (mg), Fonte: Fonte de variação; gl.: Graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, MQ: quadrado médio, F: Estatística F calculada.

Tabela 10 – Análise de variância do modelo ótimo dos fármacos em M-CP

Fonte	gl	SQ	MQ	F	Valor-p
modelo	4	0,951	0,238	9,342	0,0011*
x <sub>1</sub>	1	0,010	0,010	2,529	0,2527
x <sub>2</sub>	1	0,576	0,576	150,012	0,0066**
x <sub>3</sub>	1	0,271	0,271	70,728	0,0138*
x <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1	0,094	0,094	24,405	0,0386*
Resíduos	12	0,305	0,025		
Falta de ajuste	10	0,298	0,030	7,754	0,1196
Erro puro	2	0,008	0,004		

Fonte: Autor (2025).

Legenda: \* Significativo a 5%, \*\* Significativo a 1%, x<sub>1</sub>: pH; x<sub>2</sub>: volume de amostra (mL), x<sub>3</sub>: massa de M-CP (mg), Fonte: Fonte de variação, gl.: Graus de liberdade, SQ: soma de quadrados, MQ: quadrado médio, F: Estatística F calculada.

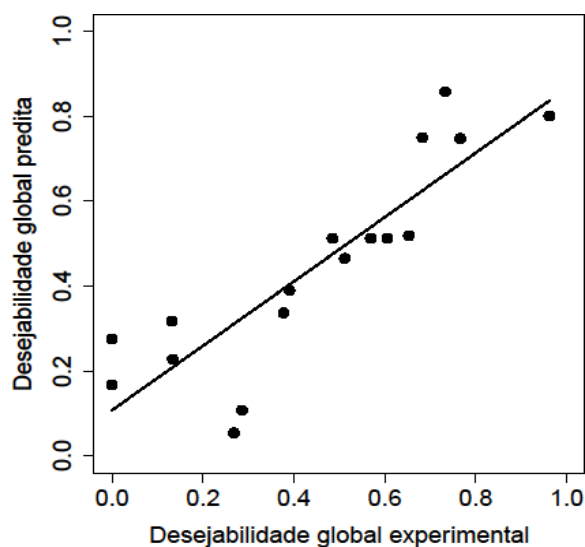
A variável associada ao pH foi não significativa, ou seja, é um modelo que não é estatisticamente significativo, ou seja, não indicou que os resultados não ocorreram por acaso, mas a variável foi mantida no modelo para correção de falta de ajuste. O valor obtido para a estatística F (9,342) do modelo foi maior que o F tabelado (3,259), indicando significância. Assim, o modelo apresentado na Tabela 10 e sumarizado na equação (14) é adequado para descrição dos dados e pode ser usado para análise dos efeitos das variáveis na adsorção de CBZ, PHT, PB e PRM.

$$DG = 0,512 - 0,027 x_1 + 0,203 x_2 + 0,141 x_3 - 0,08479x^2 \quad (14)$$

Em que DG é a desejabilidade global, x<sub>1</sub>, x<sub>2</sub> e x<sub>3</sub> são respectivamente as variáveis independentes codificadas pH, volume de amostra de e massa de M-CP. O modelo apresentou um R<sup>2</sup> = 0,7569, o que indica que é capaz de explicar 75,69% da variabilidade dos dados desejabilidade global.

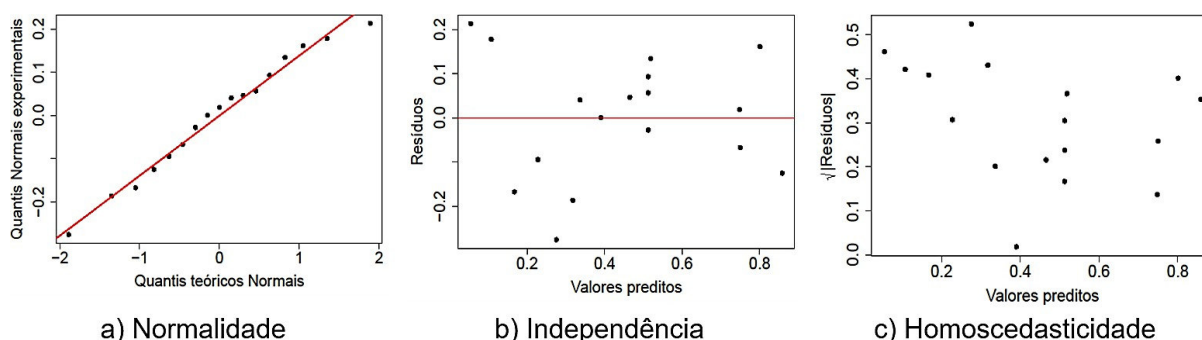
No Quadro 2 é apresentada a dispersão dos valores da desejabilidade predita pelo modelo e os valores experimentais obtidos sendo possível observar que há uma boa concordância entre os valores da desejabilidade predita pelo modelo e os valores experimentais obtidos, o que mostra a adequabilidade do ajuste do modelo aos dados. Posteriormente foi feita a análise gráfica dos resíduos do modelo (Quadro 3).

Quadro 2 – Desejabilidade global predita pelo modelo e valores experimentais obtidos



Fonte: Autor (2025).

Quadro 3 – Análise gráfica dos resíduos do modelo



a) Normalidade  
Fonte: Autor (2025).

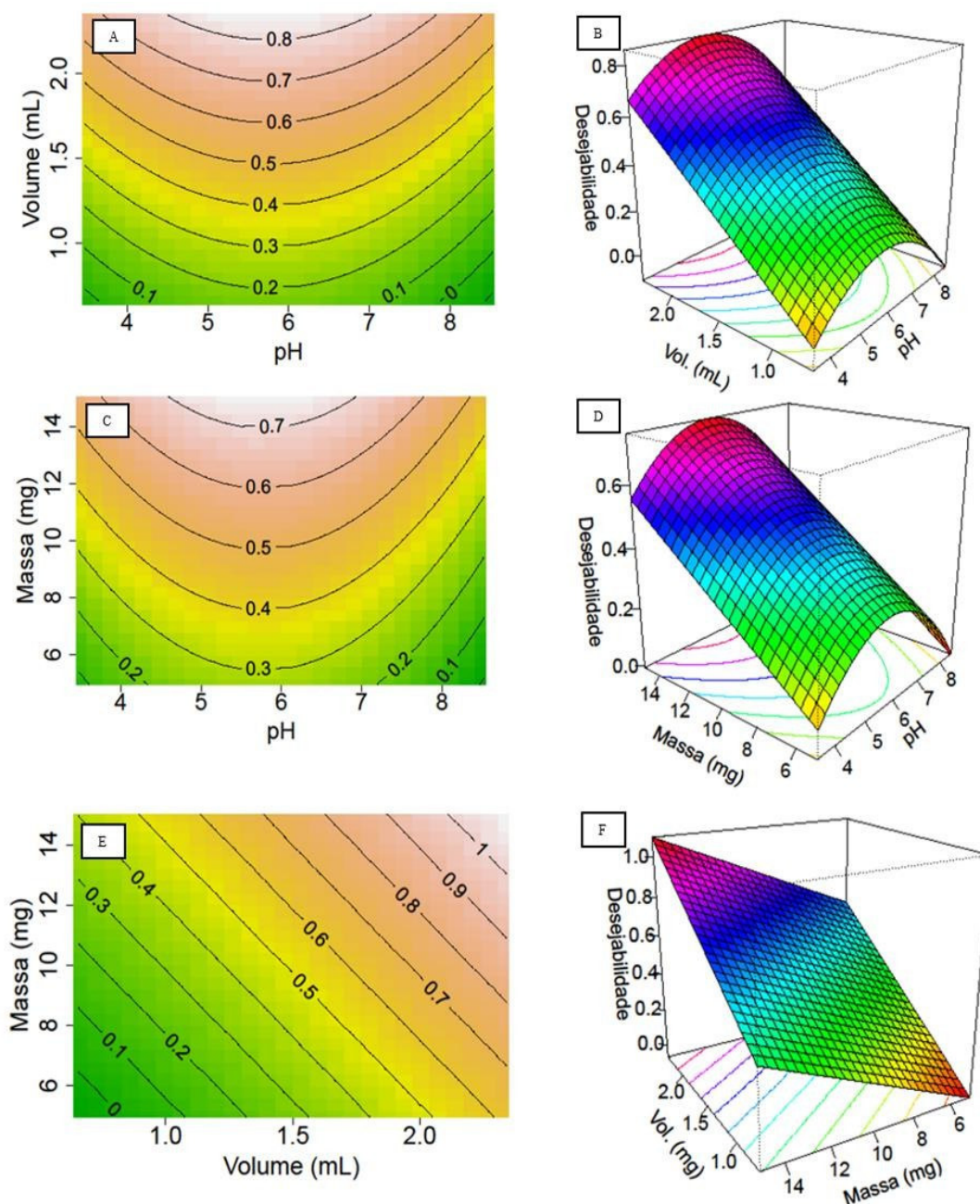
b) Independência

c) Homoscedasticidade

Ao que se pode observar do Quadro 3 (a) os resíduos parecem seguir uma distribuição normal, visto que a maioria dos pontos parece pertencer à reta. No Quadro 3 (b) nota-se que os resíduos se distribuem aleatoriamente de acordo com os valores preditos, o que sugere a ausência de autocorrelação. Por último, no Quadro 3 (c) nota-se que a raiz quadrada dos resíduos também se distribuem aleatoriamente de acordo com os valores preditos, o que sugere a homoscedasticidade dos mesmos.

Diante disso, não há evidências de violações nas pressuposições da regressão pelo modelo. Foram então obtidas as superfícies de resposta e as curvas de contorno (Quadro 4) a seguir:

Quadro 4 – Superfícies de resposta e curvas de contorno do modelo ótimo de adsorção dos fármacos em M-CP



Fonte: Autor (2025).

Legenda:

- a) e b) pH e volume de amostra.
- c) e d) pH e massa de nanopartículas.
- e) e f) Volume de amostra e amssa de nanopartículas.

A desejabilidade global, e consequentemente a adsorção conjunta dos fármacos, aumenta conforme o aumento da massa de M-CP e o volume de amostra e parece atingir seu máximo em valores de pH próximos a 6.

A partir do modelo (1) e do Quadro 4, obtiveram-se as condições ótimas que maximizam o valor da desejabilidade global, sendo pH 5,87, massa de 12,8 mg e volume de amostra de 2,18 mL.

## 5.4 ESTUDOS DE ADSORÇÃO

### 5.4.1 Cinética de adsorção

Com os dados de área de pico e a curva de calibração obtida, ajustaram-se os modelos de cinética de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordens, Elovich e Avrami. As informações dos modelos ajustados, estimativas dos parâmetros, desvio padrão e os valores-p associados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Expressões, estimativas, desvio padrão e significância dos parâmetros dos modelos de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP

Modelo	Expressão	Parâmetro	Estimativa	D.p.	Valor-p
<b>PPO</b>	$q_t = q_{e1}(1 - \exp(-k_f t))$	$q_{e1}$ (mg g <sup>-1</sup> )	0,83	0,04	<0,0001***
		$k_f$ (min <sup>-1</sup> )	0,10	0,02	0,0001***
<b>PSO</b>	$q_t = \frac{q_{e2}^2 k_s t}{1 + q_{e2} k_s t}$	$q_{e2}$ (mg g <sup>-1</sup> )	0,91	0,03	<0,0001***
		$k_s$ (g mg <sup>-1</sup> . min <sup>-1</sup> )	0,15	0,03	0,0001***
<b>Elovich</b>	$q_t = \frac{\ln(1 + \alpha \beta t)}{\beta}$	$\alpha$ (mg g <sup>-1</sup> . min <sup>-1</sup> )	0,43	0,05	<0,0001***
		$\beta$ (mg g <sup>-1</sup> )	6,58	0,20	<0,0001***
		$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	1,03	0,03	<0,0001***
<b>Avrami</b>	$q_t = q_e(1 - \exp(-k_{AV} t^{n_{AV}}))$	$k_{AV}$ (min <sup>-1</sup> )	0,24	0,01	<0,0001***
		$n_{AV}$	0,44	0,02	<0,0001***

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

Legenda: \*\* significativo a 1%, \*\*\* significativo a 0,1%, D.p.: Desvio padrão; PPO: Pseudo-primeira ordem, PSO: Pseudo-segunda ordem.

Ao que se pode observar da Tabela 11, todos os parâmetros dos modelos de cinética foram significativos ( $p < 0,05$ ). Os modelos apresentaram coeficientes de determinação múltipla ajustado ( $R_{aj}^2$ ) elevados: PPO ( $R_{aj}^2 = 92,61\%$ ), PSO ( $R_{aj}^2 = 96,76\%$ ), Elovich ( $R_{aj}^2 = 99,42\%$ ) e Avrami ( $R_{aj}^2 = 99,79\%$ ), sugerindo boa qualidade de ajuste.

Posteriormente foram avaliadas as pressuposições da regressão não linear (análise de resíduos), e os resultados são apresentados na Tabela 12 a seguir.

Tabela 12 – Valor-p obtido para os testes da análise dos resíduos dos modelos de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP

<b>Modelo</b>	<b>Teste de Shapiro-Wilk</b>	<b>Teste de Box-Pearse</b>	<b>Teste de Breusch-Pagan</b>
PPO	0,5215	0,0049**	0,6347
PSO	0,7254	0,0126*	0,3090
Elovich	0,5892	0,3427	0,0507
Avrami	0,1148	0,5527	0,1545

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

Legenda: PPO: Pseudo-primeira ordem, PSO: Pseudo-segunda ordem.

É possível observar que os modelos de cinética de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordens apresentaram violações nas pressuposições (resíduos não independentes), sendo excluídos da análise. Posteriormente, obtiveram-se os critérios de informação AICc, AIC e BIC (Tabela 13):

Tabela 13 – Critérios de seleção dos modelos de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP

<b>Modelos</b>	<b>AICc</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
Avrami	-78,47	-82,47	-79,64
Elovich	-65,74	-67,92	-65,79

Fonte: Autor.

Legenda: AICc: Critério de informação de Akaike corrigido, BIC: Critério de informação Bayesiano, AIC: Critério de informação de Akaike.

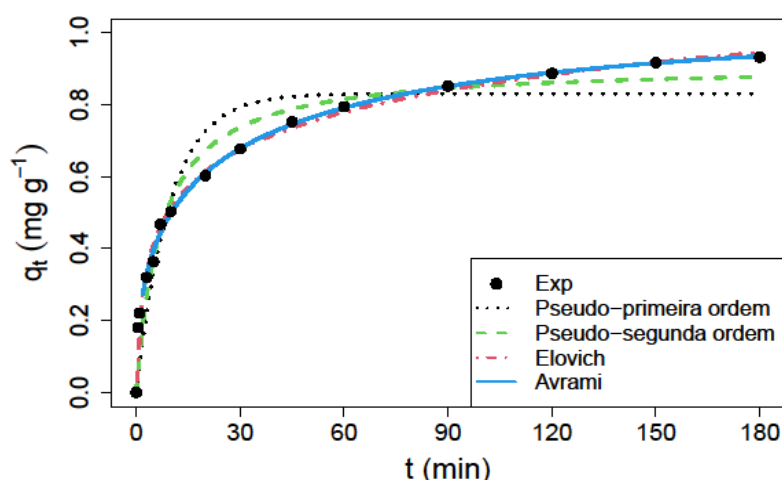
Para a diferenciação entre os modelos por meio dos critérios de seleção, a diferença entre os valores desses critérios deve ser maior ou igual a dois. Diante disso, os resultados apresentados na Tabela 13 evidenciam que o modelo de Avrami foi o melhor ajustado aos dados de adsorção de fenobarbital em M-CP, uma vez que ele apresentou os menores valores de todos os critérios de informação.

De acordo com o modelo de Avrami, a capacidade máxima de adsorção na concentração do fármaco estudado é de 1,03 mg por grama de M-CP (intervalo de confiança de 95%, IC95%: 0,96 - 1,10 mg g<sup>-1</sup>) na concentração avaliada (5,00 mg L<sup>-1</sup>).

Ainda, os resultados de coeficiente de determinação ajustado ( $R_{aj}^2$ ) dos modelos demonstraram que o maior valor foi de 99,79% do modelo de Avrami.

As curvas de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP são apresentadas no Quadro 5 em que pode ser observado que em 60 minutos a adsorção diminui, tendendo ao equilíbrio e o aumento adicional no tempo de contato do material com não surge efeito significativo na quantidade de adsorção.

Quadro 5 – Modelos de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP



Fonte: Autor (2025).

A possibilidade de que a resistência de difusão intrapartícula possa afetar o processo de adsorção foi avaliada pelo modelo de difusão intrapartícula de Weber-Morris (Tabela 14).

Tabela 14 – Informações dos modelos de difusão intrapartícula de Weber-Morris no estudo de cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP

Modelo	Parâmetro	Estimativa	D.p.	Valor-p	$R^2$
1	C1 ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0,0427	0,0219	0,1085	0,9737
	kid1 ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-0.5}$ )	0,1530	0,0112	<0,0001***	
2	C2 ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0,3105	0,0238	0,0010**	0,9878
	kid2 ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-0.5}$ )	0,0646	0,0041	0,0006***	
3	C3 ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0,6147	0,0223	<0,0001***	0,9795
	kid3 ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-0.5}$ )	0,0244	0,0020	0,0013**	

Fonte: Elaborado pelo Autor.

Legenda: \*\*\*Significativo a 0,1%, \*\*Significativo a 1%, D.p.: Desvio padrão.

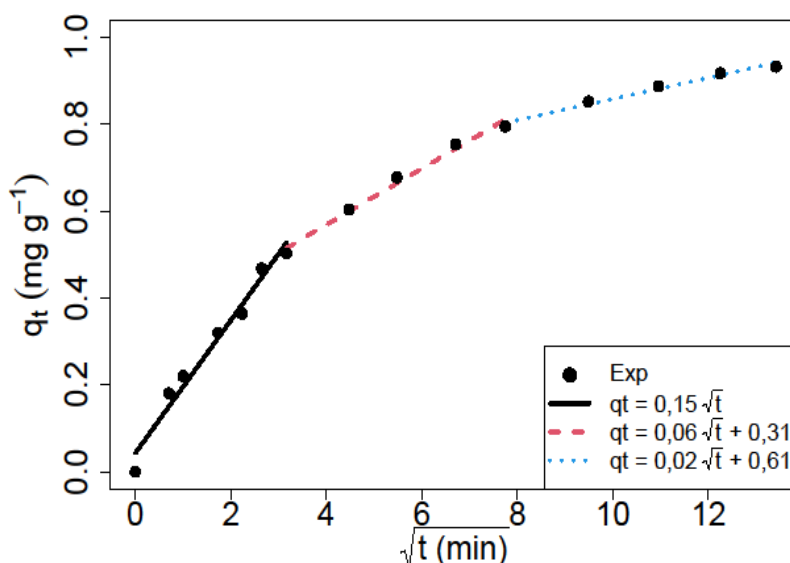
Pode-se observar na Tabela 14 que os modelos 1, 2 e 3 foram estatisticamente significativos, ou seja, houve baixa probabilidade de ocorrência dos resultados terem ocorrido ao acaso, uma vez que os parâmetros  $k_{id1}$ ,  $k_{id2}$  e  $k_{id3}$ , taxas de difusão intrapartícula, foram significativos ( $p < 0,05$ ). Sendo o coeficiente de correlação linear  $\rho = \sqrt{R^2}$  observa-se também que os modelos apresentaram alta correlação aos dados ( $\rho_1 = 0,9867$ ,  $\rho_2 = 0,9939$  e  $\rho_3 = 0,9897$  respectivamente).

Estes resultados sugerem que a etapa determinante da velocidade do processo de adsorção é determinada pela difusão intrapartícula das moléculas de fenobarbital pelos poros do M-CP.

A etapa inicial se apresentou com taxa de  $K_{id1} = 0,15 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-0,5}$  e diminuindo gradativamente nos modelos 2 e 3. Na primeira difusão a adsorção ocorre rapidamente devido a elevada concentração do analito em solução enquanto na segunda há dificuldade de chegada do adsorvato nos sítios ativos de ligação, retardando a saturação do material. Essa segunda difusão é considerada limitante pois esta determina o alcance do equilíbrio. Por fim, a terceira está relacionada a concentração baixa do fenobarbital e a difusão pelos poros menores do M-CP até que o equilíbrio seja estabelecido (Wu; Tseng; Juang, 2009).

No Quadro 6 são apresentados os modelos de Weber-Morris para os dados de cinética de adsorção de PB em M-CP.

Quadro 6 – Modelos de difusão intrapartícula de Weber-Morris para a cinética de adsorção de fenobarbital em M-CP



Fonte: Autor (2025).

### 5.4.2 Isoterma de adsorção

A partir dos dados obtidos, ajustou-se os principais modelos de isoterma de adsorção de dois e três parâmetros (Tabela 15).

Tabela 15 - Estimativa, desvio padrão e significância das isotermas de dois e três parâmetros para adsorção de fenobarbital em M-CP

Modelo	Expressão	Parâmetros	Estimativa	D.P	Valor-p
Langmuir	$q_e = \frac{q_{\max} b c_e}{1 + b c_e}$	$q_{\max}$	16.89	2.39	<0.0001***
		b	0.01	$2.5 \times 10^{-3}$	0.0021**
Freundlich	$q_e = k_F c_e^{1/n_F}$	$n_F$	0.35	0.09	0.0037**
		$k_F$	1.41	0.12	<0.0001***
Dubinin-Radushkevich	$q_e = (q_s) \exp(-k_{ad} e^2)$ $e = RT \ln(1 + 1/c_e)$	$q_s$	7.65	0.63	<0.0001***
		$k_{ad}$	$5.1 \times 10^{-5}$	$1.3 \times 10^{-5}$	0.0040**
Temkin	$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln(A_T c_e)$	$b_T$	1292.40	192.43	0.0001***
		$A_T$	0.39	0.12	0.0101*
Elovich	$q_e = q_m k_e \exp\left(\frac{c_e}{q_m}\right)$	$q_m$	62.1	11.74	0.0005***
		$k_e$	0.03	$3.6 \times 10^{-3}$	<0.0001***
Harkins-Jura	$q_e = \left(\frac{A_{HJ}}{B_{HJ} - \log(c_e)}\right)^{1/2}$	$A_{HJ}$	5.96	1.32	0.0014**
		$B_{HJ}$	2.34	0.09	<0.0001***
Jovanovic	$q_e = q_{\max} (1 - e^{K_J c_e})$	$q_{\max}$	10.96	1.08	<0.0001***
		$K_J$	0.02	$2.7 \times 10^{-3}$	0.0002***
Sips	$q_e = \frac{q_{\max} K_S c_e^{1/b_{eS}}}{1 + a_S c_e^{1/b_{eS}}}$	$q_{\max}$	12.37	2.27	<0.001***
		$K_S$	0.01	$3.1 \times 10^{-3}$	0.0359*
		$b_{eS}$	0.81	0.12	0.0002***
Koble-Corrigan	$q_e = \frac{A_K c_e^{n_K}}{1 + B_K c_e^{n_K}}$	$A_K$	0.09	0.05	0.0952
		$n_K$	1,24	0.19	0.0002***
		$B_K$	0,01	$3 \times 10^{-3}$	0.0359*
Radke-Prausnitz	$q_e = \frac{q_{RP11} K_{RP11} c_e}{1 + K_{RP11} c_e^{m_{RP11}}}$	$q_{RP11}$	1405.5	5113.67	0.7904
		$K_{RP11}$	$1 \times 10^{-4}$	$3.9 \times 10^{-4}$	0.7958
		$m_{RP11}$	1.91	0.76	0.0358
Toth	$q_e = \frac{q_{\max} k_T c_e}{[1 + (k_T c_e)^{n_T}]^{1/n_T}}$	$q_{\max}$	10.11	1.90	0.0007***
		$k_T$	0.01	$2 \times 10^{-3}$	0.0001***
		$n_T$	2.28	1.24	0.1037
Redlich-Peterson	$q_e = \frac{K_{RP} + c_e}{1 + a_{RP} c_e^{g_{RP}}}$	$K_{RP}$	0.15	0.02	<0.0001***
		$a_{RP}$	$1 \times 10^{-4}$	$3.9 \times 10^{-4}$	0.7958
		$g_{RP}$	1.91	0.76	0.0358*
Landmuir-Freudlich	$q_e = \frac{q_{LF} (K_{LF} c_e)^{m_{LF}}}{1 + (K_{LF} c_e)^{m_{LF}}}$	$q_{\max}$	12.37	2.27	0.0006**
		$K_{LF}$	0.02	$6.7 \times 10^{-3}$	0.0181*
		$m_{LF}$	1.24	0.19	0.0002***
Hill	$q_e = \frac{q_{\max} c_e^{n_H}}{K_H + c_e^{n_H}}$	$q_{\max}$	12.37	2.27	0.0006***
		$n_H$	1.24	0.19	0.0002***
		$K_H$	129.90	51.57	0.0359*

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

Legenda: \*Significativo a 5%, \*\* Significativo a 1%, \*\*\* Significativo a 0.1%, D.P. Desvio Padrão.

Ao que se pode observar da Tabela 15, as isotermas de Koble-Corrigan, Radke-Prausnitz, Toth e Redlich-Peterson apresentaram parâmetros com estimativas não significativas ao nível de 5%, sendo assim, não sendo adequados para modelagem dos dados. Por isso, prosseguiu-se então para a análise das pressuposições (Tabela 16) dos modelos remanescentes.

Tabela 16 – Valor-p obtido para os testes da análise das pressuposições das isotermas de adsorção de fenobarbital em M-CP.

<b>Modelos</b>	<b>Teste de Shapiro-Wilk</b>	<b>Teste de Box- Pearson</b>	<b>Teste de Breusch-Pagan</b>
Langmuir	0,9971	0,2032	0,4222
Freundlich	0,5659	0,8088	0,1437
Dubinin-Radushkevich	0,0462*	0,2097	0,0751
Sips	0,1810	0,0919	0,0696
Hill	0,1810	0,0919	0,0696
Toth	0,1818	0,1345	0,0847
Langmuir-Freundlich	0,1810	0,0919	0,0696
Temkin	0,3246	0,1293	0,5470
Harkins-Jura	0,0500	0,1113	0,7059
Jovanovic	0,9918	0,1690	0,3587
Elovich	0,0262*	0,0962	0,7118

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

Ao que se pode observar na Tabela 16, os modelos de Dubinin-Radushkevich, e Elovich apresentaram resíduos não normais, sendo assim, estes foram desconsiderados da análise. Na etapa seguinte obtiveram-se os critérios de informação dos modelos (Tabela 17).

Tabela 17 – Critérios de informação para seleção dos modelos.

<b>Modelos</b>	<b>AICc</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
Jovanovic	18,20	14,77	15,97
Langmuir	19,44	16,01	17,21
Hill	22,43	15,76	17,35
Sips	22,43	15,76	17,35
Langmuir-Freundlich	22,43	15,76	17,35
Freundlich	26,71	23,28	24,48
Harkins-Jura	42,21	38,78	39,98
Temkin	43,92	40,49	41,69

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

Legenda: AICc: Critério de informação de Akaike corrigido, AIC: Critério de informação de Akaike, BIC: Critério de informação Bayesiano.

Para a diferenciação entre os modelos por meio dos critérios de seleção, a diferença entre os valores desses critérios deve ser maior ou igual a dois. Diante disso, não se pode diferenciar os modelos com base nos valores de AIC e BIC, entretanto, ao se avaliar o AICc, os modelos de Langmuir e Jovanovic apresentaram os menores valores com uma diferença maior que 2 em relação aos demais.

O fato de ambos os modelos se ajustarem bem aos dados é coerente, uma vez que o modelo proposto por (Jovanovic, 1969) possui premissas bastante semelhantes ao de Langmuir. Para a seleção entre os dois modelos, obtiveram-se algumas métricas de avaliação da intensidade dos resíduos (Tabela 18).

Os valores apresentados na Tabela 18 mostram que o modelo de Jovanovic apresentou os menores valores de todas as métricas bem como maiores valores de Log-verossimilhança,  $R^2$  e  $R^2_{ajust}$ , sendo assim selecionado para modelagem dos dados de adsorção de fenobarbital em M-CP.

De grande importância para o desenvolvimento de matrizes adsorventes, o parâmetro capacidade máxima de adsorção ( $q_{e_{max}}$ ) deve ser avaliado com mais detalhes. Na Tabela 19 são apresentadas algumas informações das estimativas e da variação associadas ao  $q_{e_{max}}$  dos modelos de Jovanovic e Langmuir.

Tabela 18 – Métricas de avaliação da intensidade dos resíduos dos modelos de Langmuir e Jovanovic para a adsorção de fenobarbital em M-CP.

Expressão	Nome	Langmuir	Jovanovic
$\sum_{i=1}^n (qe_{i,calc} - qe_{i,exp})^2$	Soma de quadrado dos resíduos (SSE)	1,60	1,43
$\frac{100}{n-p} \sum_{i=1}^n \left[ \frac{qe_{i,exp} - qe_{i,calc}}{qe_{i,exp}} \right]$	Erro fracionário híbrido	11,08	10,17
$\frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left  \frac{qe_{i,exp} - qe_{i,calc}}{qe_{i,exp}} \right $	Erro médio relativo (ARE)	22,09	21,68
$\sum_{i=1}^n  qe_{i,exp} - qe_{i,calc} $	Soma de erros absolutos	3,32	3,16
$100 \times \sqrt{\frac{1}{n-p} \sum_{i=1}^n \left[ \frac{qe_{i,exp} - qe_{i,calc}}{qe_{i,exp}} \right]^2}$	Desvio padrão percentual de Marquardt	37,85	36,44
$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [(qe_{i,exp} - qe_{i,calc}) - ARE]^2}{n-1}}$	Desvio padrão do erro relativo	0,46	0,44
$\sum_{i=1}^n \frac{(qe_{i,calc} - qe_{i,exp})^2}{qe_{i,exp}}$	Estatística de Qui-quadrado	1,00	0,92
$L(qe, \theta) = \prod_{i=1}^n f(qe_{i,exp}; \theta)$	Log-verossimilhança	-5,01	-4,39
$\left[ \frac{\sum_{i=1}^p (qe_{i,exp} - \bar{qe}_{exp})^2 - \sum_{i=1}^p (qe_{i,exp} - qe_{i,calc})^2}{\sum_{i=1}^n (qe_{i,exp} - \bar{qe}_{exp})^2} \right]$	Coefficiente de determinação múltipla (R <sup>2</sup> )	0,9824	0,9842
$1 - (1 - R^2) \left( \frac{n_p - 1}{n_p - p - 1} \right)$	Coefficiente de determinação ajustado (R <sup>2</sup> <sub>ajust</sub> )	0,9780	0,9803

Fonte: Elaborado pelo autor, baseada em Foo e Hameed, (2010).

Legenda:  $qe_{i,exp}$ : cada observação experimental  $qe$ ,  $qe_{i,calc}$ : valor teórico de  $qe$  predito pelo modelo,  $n$ : número de observações (número de concentrações),  $p$ : número de parâmetros,  $\theta$ : vetor de parâmetros do modelo.

Tabela 19 – Informações sobre o parâmetro  $q_{e,max}$  dos modelos selecionados.

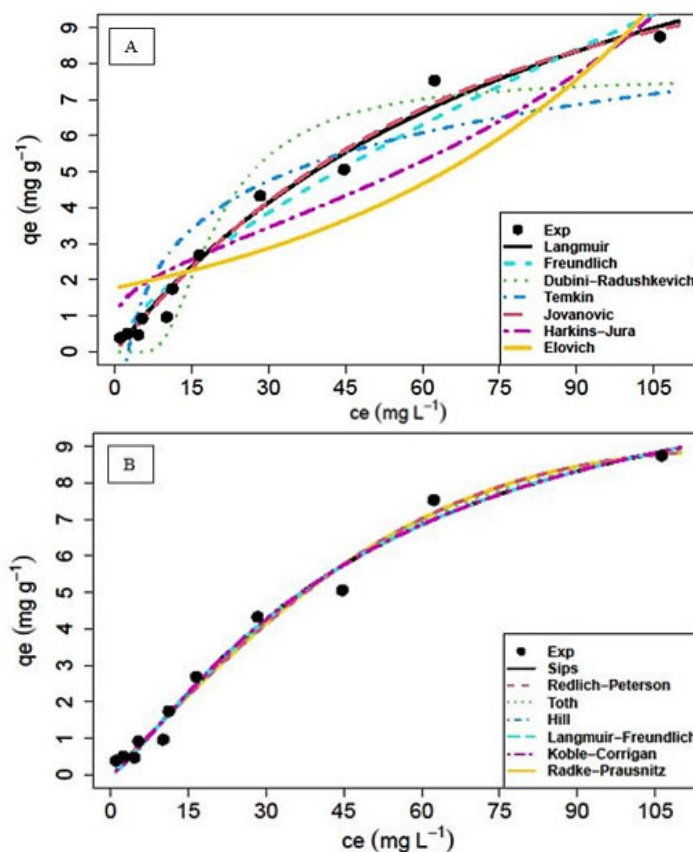
Modelo	$q_{e,max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	Desvio padrão	IC 95%		Amplitude intervalar	DPR (%)
			2,5%	97,5%		
Langmuir	16,90	2,39	12,92	24,53	11,61	14,15
Jovanovic	10,96	2,5x10 <sup>-3</sup>	9,08	14,31	5,23	9,82

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

Ao que se pode observar da Tabela 19, as estimativas do  $q_{e_{\max}}$  do modelo de Jovanovic apresentou estimativas com maior precisão e menor amplitude intervalar quando comparadas ao modelo de Langmuir. Além disso, a estimativa de  $q_{e_{\max}}$  de Jovanovic,  $q_{e_{\max}} = 10,96 \text{ mg g}^{-1}$ , é mais coerente com os dados de  $q_e$  obtidos experimentalmente, cujo maior valor obtido foi  $q_e = 8,74 \text{ mg g}^{-1}$ . Portanto, este modelo prevê a adsorção em monocamada e em superfície homogênea em termos de energia, sendo a dessorção dependente da quantidade de material presente.

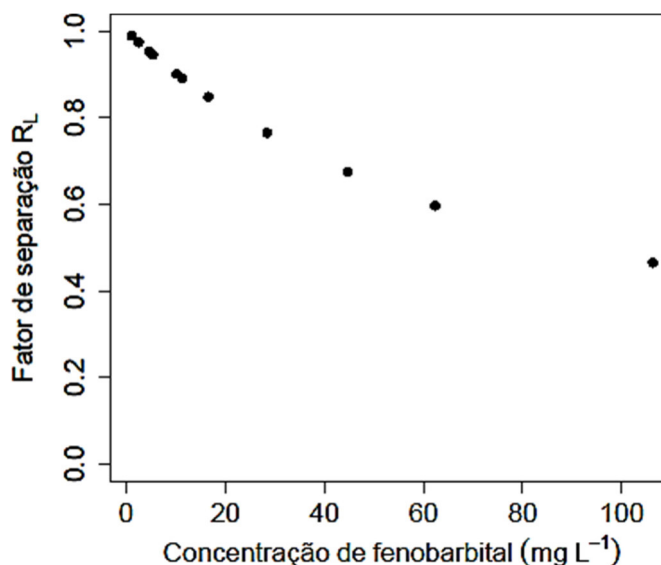
No Quadro 7 (A) e (B) são apresentados os Quadros das isotermas de dois parâmetros e enfatizam a qualidade geral dos modelos ajustados, destacando-se as isotermas de Langmuir e Jovanovic, sendo a de Langmuir também utilizada para avaliar o grau de desenvolvimento do processo de adsorção, com base nos valores do fator de separação  $R_L$  (Quadro 8).

Quadro 7 - Modelos de isotermas de adsorção de fenobarbital em M-CP.



Fonte: Autor (2025).

Quadro 8 - Fator de separação para a adsorção de fenobarbital em M-CP.



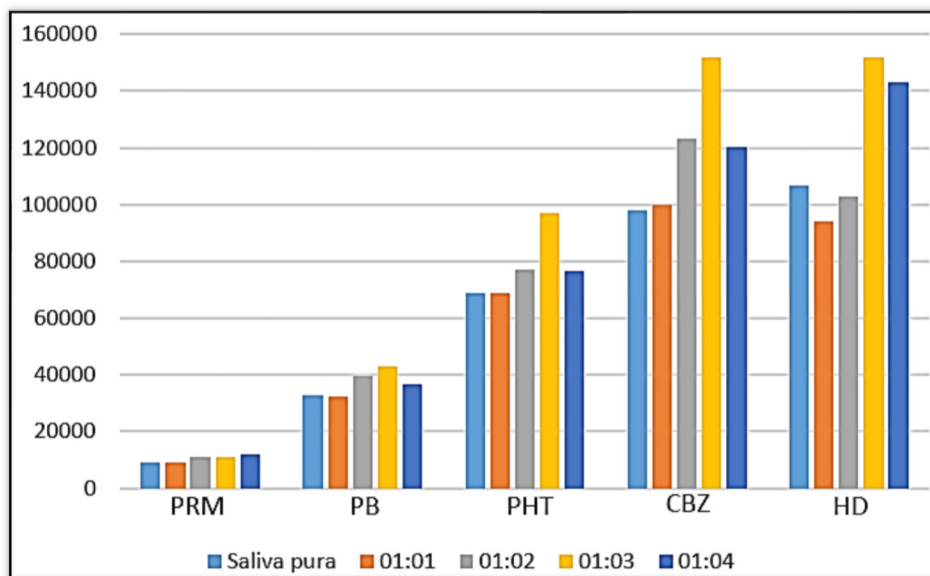
Fonte: Autor (2025).

Os valores obtidos de  $R_L$  do Quadro 8 foram calculados utilizando os resultados de  $q_{max}$  e  $K_L$  (constante relacionada com a energia livre de adsorção) sendo que  $0 < R_L < 1$  representativo de que a adsorção prefere a fase sólida à líquida, e  $R_L > 1$  a fase líquida à sólida. Os resultados se apresentaram na faixa de 0,46 a 0,99, indicando que a adsorção ocorre de modo favorável em toda faixa de concentração analisada, o que sugere que o fenobarbital tem maior afinidade pelas nanopartículas de M-CP do que pela água.

## 5.5 DILUIÇÃO DA SALIVA

Previamente às análises de extração e eluição, foi feita a análise da diluição da saliva. As condições de análise ( $n=3$ ) envolveram o ajuste do pH da saliva para 6 e concentração dos fármacos em  $3\text{ mg L}^{-1}$  e utilizados 5mg de M-CP. O Quadro 9 mostrou que a diluição saliva:água Milli-Q (1:3 v:v) foi a que apresentou melhor valor de área de pico, sendo então escolhida como condição.

Quadro 9 – Áreas de pico obtidas para os fármacos em diferentes diluições da amostra de saliva em água MiliQ.



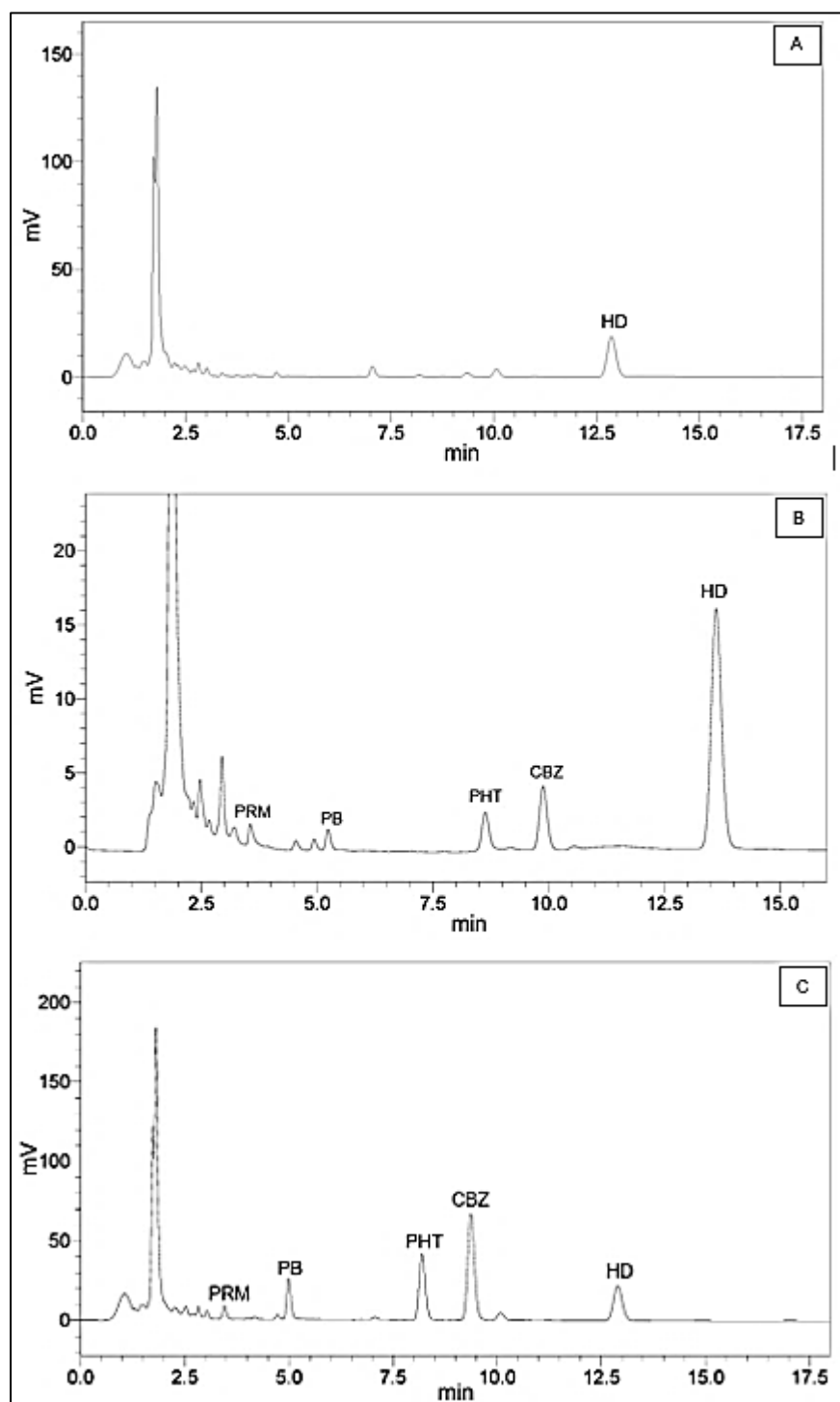
Fonte: Autor (2025).

## 5.6 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

As análises cromatográficas se deram em amostra biológica (saliva) envolvendo os processos de extração e eluição. Os cromatogramas foram obtidos nas mesmas condições (FIGURA 13A, 13B, 13C). As análises de validação foram realizadas bem como as curvas de calibração plotadas no Quadro 10.

Na Figura 13A o único pico representado é o referente à HD (amostra zero) em concentração de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  mantida nas análises. As Figuras 13B e 13C representam os cromatogramas em concentrações de 1 e  $20 \text{ mg L}^{-1}$  para os quatro analitos. Verificou-se que além do pico de injeção, as amostras de saliva apresentaram interferentes de baixa intensidade em até 3 minutos da corrida cromatográfica. Verificou-se que as condições cromatográficas foram bem sucedidas em termos de detecção e separação dos anticonvulsivantes.

Figura 13 – Cromatogramas das análises por HPLC.

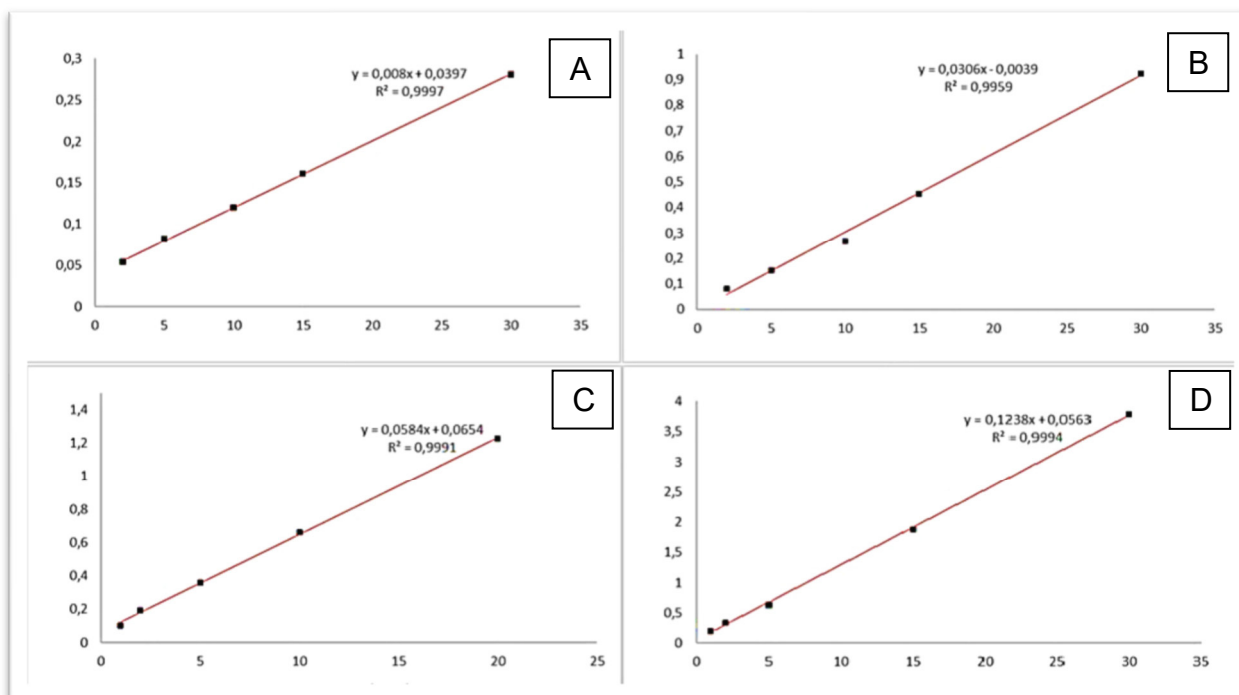


Fonte: Autor (2025).

Legenda:

- a) amostra zero.
- b) amostra em  $1 \text{ mg L}^{-1}$ .
- c) amostra em  $20 \text{ mg L}^{-1}$ .

Quadro 10 – Curvas de calibração dos fármacos.



Fonte: Autor (2025).

Legenda:

- a) PRM.
- b) PB.
- c) PHT.
- d) CBZ.

Para os parâmetros da validação LD, LQ, DPR e ER (Tabela 20), as áreas dos picos cromatográficos foram corrigidas pelo PI, obtendo-se a área relativa de cada fármaco detectado através da divisão da área do pico cromatográfico do AC pela área do pico da HD.

Tabela 20 – Parâmetros de validação para o experimento de extração e eluição dos fármacos.

Parâmetros	PRM	PB	PHT	CBZ
Linearidade (n=5)	0,9997	0,9959	0,9991	0,9994
LD (mg L <sup>-1</sup> ) (n=3)	0,48	1,30	0,52	0,62
LQ (mg L <sup>-1</sup> ) (n=3)	2,00	2,00	1,00	1,00
DPR (%) (n=3)	10,51 <sup>a</sup>	10,29 <sup>a</sup>	3,06 <sup>d</sup>	4,42 <sup>d</sup>
	10,61 <sup>b</sup>	9,17 <sup>b</sup>	3,20 <sup>e</sup>	5,39 <sup>b</sup>
	14,14 <sup>c</sup>	15,59 <sup>c</sup>	1,35 <sup>f</sup>	3,64 <sup>c</sup>
ER (%) (n=3)	-13,37 <sup>a</sup>	13,21 <sup>a</sup>	10,86 <sup>d</sup>	14,81 <sup>d</sup>
	0,33 <sup>b</sup>	-9,71 <sup>b</sup>	1,83 <sup>e</sup>	-3,34 <sup>b</sup>
	0,45 <sup>c</sup>	-0,78 <sup>c</sup>	-0,54 <sup>f</sup>	0,62 <sup>c</sup>

Fonte: Autor.

Legenda: LD: limite de detecção, LQ: limite de quantificação, DPR: desvio padrão relativo, ER: erro relativo, <sup>a</sup>: concentração de 2mg L<sup>-1</sup>, <sup>b</sup>: concentração de 15mg L<sup>-1</sup>, <sup>c</sup>: concentração de 30mg L<sup>-1</sup>; <sup>d</sup>: concentração de 1mg L<sup>-1</sup>; <sup>e</sup>: concentração de 10mg L<sup>-1</sup>; <sup>f</sup>: concentração de 20mg L<sup>-1</sup>.

O método desenvolvido foi linear ( $R^2 \geq 0,9964$ ), para todos os analitos. Os limites de detecção calculados variaram de 0,48 a 1,30 mg L<sup>-1</sup>, enquanto os limites de quantificação foram definidos como a primeira concentração utilizada na curva de calibração de cada fármaco. É possível afirmar, analisando os resultados de RSD e RE, que este método apresenta boa precisão e exatidão.

Se comparando as faixas terapêuticas dos fármacos analisados, no sangue e na saliva, e observando os valores de LD na Tabela 20, os quatro fármacos possuem valores adequados (abaixo da dose terapêutica), sendo possível uma aplicação prática do método. Ainda, pode ser adequado e prático para aplicações em terapia medicamentosa e rotina clínica de análise, sendo possível a quantificação da concentração subterapêutica com confiabilidade.

Em termos de comparação, existem poucos métodos analíticos reportados na literatura para quantificação simultânea de anticonvulsivantes em saliva. A Tabela 21 apresenta comparações de LD com a literatura.

Tabela 21– Comparação entre os valores de LD neste trabalho e a literatura.

Referência	Técnica Cromatográfica	Preparo de amostra	Sorbente	Amostra	LD (mg L <sup>-1</sup> )
arcos, 2011	UPLC-MS/MS	SPE	Sorbente polimérico	Plasma	0,51 <sup>a</sup>
Cavazos <i>et al.</i> , 2011	HPLC-DAD Fase reversa	Precipitação de proteína	Acetonitrila	Plasma	1,38 <sup>a</sup>
					1,60 <sup>b</sup>
					1,85 <sup>c</sup>
					1,98 <sup>d</sup>
Medeiros <i>et al.</i> , 2020	HPLC-DAD	LLE	Ácido tricloroacético	Plasma	7,95 <sup>b</sup>
Budakova <i>et al.</i> , 2008	HPLC-UV	LLE	Dietil éter	Serum	0,20 <sup>a</sup>
					0,27 <sup>b</sup>
					0,40 <sup>c</sup>
					0,12 <sup>d</sup>
Esse trabalho	HPLC-UV	d-SPE magnética	Polímero magnético	Saliva	0,48 <sup>a</sup>
					1,30 <sup>b</sup>
					0,52 <sup>c</sup>
					0,62 <sup>d</sup>

Fonte: Elaborado pelo Autor (2025).

Legenda:

- a) PRM.
- b) PB.
- c) PHT.
- d) CBZ.

Alguns melhores resultados de validação podem ser observados, como a precisão para CBZ a  $15 \text{ mg mL}^{-1}$ , que neste estudo apresentou um valor de  $5,39 \text{ mg L}^{-1}$  e em Cunha (2013) de  $6,1 \text{ mg L}^{-1}$ , utilizando a técnica cromatográfica HPLC/PDA e extração líquido-líquido no preparo das amostras. Ainda, O LQ para PHT foi maior em Santos (2016) que neste trabalho, sendo relatado como  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  usando a técnica HPLC e SPE online como preparo de amostra.

Neste estudo, valores de LD e LQ mais baixos foram obtidos quando comparados aos métodos que empregaram centrifugação sanguínea e análises por HPLC-DAD (*diode-array detector*). Além disso, o método proposto obteve um valor de LD semelhante para PRM mesmo quando um detector mais sensível, o espectrômetro de massas (*mass spectrometry*: MS) foi empregado para as análises de amostras de sangue.

Os limites de LD e LQ obtidos usando o método proposto foram menores do que os obtidos com métodos que empregam extração em fase sólida e LC-MS como com extração líquido-líquido para análise HPLC-DAD.

É possível notar que este estudo tem algumas vantagens, como rapidez e facilidade na preparação da amostra devido à magnetização em comparação à centrifugação e extração em fase sólida ou extração líquido-líquido.

## 6 CONCLUSÃO

O M-CP na extração de primidona, fenobarbital, fenitoína e carbamazepina em saliva humana por meio da HPLC se mostrou ser um material promissor devido a fácil obtenção do material e preparo de amostra rápido e prático. A otimização deste estudo foi eficiente para determinação das condições ótimas de análise auxiliando no desempenho da extração, eluição e detecção dos fármacos em amostras de saliva.

O método desenvolvido e proposto neste estudo foi validado para os fármacos apresentando boa detectabilidade, excelente linearidade e valores satisfatórios de precisão e exatidão. A extração e detecção simultânea dos quatro fármacos foi eficiente, fato importante para o monitoramento terapêutico.

O método mostrou boa performance e vantagens como a coleta e tratamento facilitados da amostra, corrida cromatográfica em até 15 minutos, podendo ser aplicada em rotina de análise dos fármacos, diminuindo o tempo necessário em casos de intervenção terapêutica.

Quanto às análises físico-químicas o M-CP apresentou uma superfície homogênea tendo o modelo de Jovanovic como o melhor ajustado e ainda, quanto ao modelo cinético de adsorção, o modelo de Avrami resultou de melhor ajuste.

O método desenvolvido possui vantagens que se destacam dos outros métodos devido a facilidade e baixa utilização de solvente na obtenção do material magnético, além da possibilidade de reuso do M-CP para análises. Não foram necessários preparos de amostra mais complexos como centrifugação ou filtração, apenas magnetismo.

Portanto, pode-se inferir que a aplicação desse material junto da d-SPE magnética dos fármacos AC a partir de fluidos biológicos é eficiente devido seu alto poder adsortivo.

## REFERÊNCIAS

ABEBE, B.; MURTHY, H. C. A.; AMARE, E. Summary on Adsorption and Photocatalysis for Pollutant Remediation: Mini Review. **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, Ethiopia, v. 08, n. 04, p. 225–255, 2018.

ALMEIDA, E. D.; BERGOLD, A. Primidona: importância das propriedades físico-químicas na análise qualitativa e quantitativa. Revisão comentada. Caderno de Farmácia, Porto Alegre, v. 18, n. 1, p. 9-21, 2002.

ALMEIDA, M. P. S. DE. **Síntese e caracterização de nanopartículas de maguemita recobertas com sílica funcionalizada com grupos amina**. Universidade Federal de Goiás, 2008.

ALRASHOOD, S. T. Carbamazepine. **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**, [s.i.] v. 41, p. 133–321, 2016.

AL-GHOUTI, M. A.; DA'ANA, D. A. Guidelines for the use and interpretation of adsorption isotherm models: A review. **Journal of Hazardous Materials**, [s.i.] v. 393, p. 122-383, 2020

AMIN, M.; AKBAR, M.; SALMAN, M. Composite and theiraging: an overview. **Science in China Series: Technological Sciences**, Pakistan, v. 50, p. 697-713, 2007.

ANDRADE, A L. et al. Synthesis and characterization of magnetic nanoparticles coated with silica through a sol-gel approach. **Cerâmica**, [s.i.] v. 55, n. 336, p. 420–424, 2009.

ANVISA. Resolução Da Diretoria Colegiada - Rdc No 166, De 24 De Julho De 2017.

ARAÚJO, D. S.; RUTE, H.; MENDES, R. Carbamazepina: Uma Revisão de Literatura. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 7, n. 4, p. 30–45, 2011.

ARAÚJO, D. S. et al. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 7, n.4, p. 30-45, 2010.

AUGUSTO, P. A. et al. Economic Analysis of Industrial Plants for Nanomagnetic Particle Production for Environmental and Biomedical Use. **Materials**, [s.i.], v. 13, 2020.

AYAWEI, N.; EBELEGI, A. N.; WANKASI, D. Modelling and Interpretation of Adsorption Isotherms. **Journal of Chemistry**, [s.i.], v. 2017, p. 1–11, 2017.

BEGHI, E. The Epidemiology of Epilepsy. **Neuroepidemiology**, [s.i.], v. 54, n. 2, p. 185–191, 2020.

REPETTO, M. R; REPETTO, M. Tabla de concentraciones de xenobióticos en fluidos biológicos humanos como referencia para el diagnóstico toxicológico, 2015.

BIALER, M. Chemical properties of antiepileptic drugs (AEDs). **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.i], v. 64, n. 10, p. 887–895, 2012.

BRANGER, C; MEOUCHE, W; MARGAILLAN, A. Recent advances on ion-imprinted polymers. **Reactive & Functional Polymers**, [s.i], v. 73, n. 6, p. 859-875, 2013.

BRINKER, C. J.; SCHERER, G. W. Sol-gel science: the physics and chemistry of sol-gel processing. Academic Press, San Diego, 1990.

BORDIN, D. C. M. et al. Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. **Scientia Chromatographica**, Patos de Minas, v. 7 n. 2, p. 125–14, 2015.

BOURGEOIS, B. F; WAD, N. Individual and combined antiepileptic and neurotoxic activity of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide in mice. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, [s.i], v. 231, n. 2, p. 411–5, 1984.

CARONA, A. et al. HPLC method for the determination of antiepileptic drugs in human saliva and its application in therapeutic drug monitoring. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Coimbra, v. 197, 2021.

CARDOSO, N. F. et al. Removal of remazol black B textile dye from aqueous solution by adsorption. **Desalination**, [s.i], v. 269, n. 1–3, p. 92–103, 2011.

CARMENZULI, M.; RITCHIE, H. J.; SHALLIKER, R. A. Improving HPLC separation performance using parallel segmented flow chromatography. **Microchemical Journal**, [s.i], v. 111, p. 3-7, 2013.

CASSIANO, N. M. et al. Development of restricted-access media supports and their application to the direct analysis of biological fluid samples via high-performance liquid chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s.i], v. 384, n. 7–8, p. 1462–1469, 2006.

CAVAZOS, M. L. S. et al. Simultaneous determination of anticonvulsantes and their principal metabolites by HPLC. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, [s.i], v. 28, p. 693-704, 2005.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G.L., BONATO, P.S. Princípios básicos de cromatografia. **Fundamentos de Cromatografia**, 456 p., Campinas: Editora Unicamp, 2007.

COSTA, L. L. O.; BRANDÃO, E. C.; SEGUNDO, L. M. B. M. Atualização em epilepsia: revisão de literatura. **Rev Med**, [s.i], v. 99, n. 2, p. 81-170, 2020.

CHEN, J. et al. A norepinephrine coated magnetic molecularly imprinted polymer for simultaneous multiple chiral recognition. **Journal of Chromatography A**, [s.i], v. 1409, p. 268– 276, 2015.

CHANG, H. T.; FURUYA, E. G.; MIURA, Y.; NOLL, K. E. Effect of surface functional group on Freundlich adsorption isotherm. **Water Science and Technology**, [s.i], v. 42, p. 161–166, 2000.

CUNHA, L. C. et al. Determinação simplificada de carbamazepina, fenitoína, fenobarbital e lamotrigina em plasma e monitoração terapêutica por HPLC/PDA. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [s.i], v. 3, n. 4, 2013.

DABROWSKI, A. Adsorption — from theory to practice. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s.i], v. 93, p. 135–224, 2001.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e Preparações de Amostras. Porto Alegre: Centro de Microscopia Eletrônica e Microanálise (CEMM) do IDEIA. Porto Alegre, 60p, 2007.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. **Journal of Quality Technology**, [s.i], v. 12, p. 214-219, 1980.

DE CARVALHO, D,T; M.G. SANTOS, D.B. HIRATA, L.F. GORUP, E.C. FIGUEIREDO. Interaction between modified magnetic nanoparticles and human albumin: Kinetics and isotherm studies and application in protein depletion. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.i], v. 280, 2024.

DE DIEGO, M et al. A validated lc method for determination of carbamazepine in saliva. **Journal of the Chilean Chemical Society**, [s.i], v. 67, n. 2, 2022.

DO, D. D. **Adsorption analysis: equilibria and kinetics**. 1. ed. London: Imperial College Press, 916 f, 1998.

DOLATABADI, R et al. Electromembrane extraction-high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection of phenobarbital and phenytoin in human plasma, saliva, and urine. **Journal of the Chinese Chemical Society**, [s.i], v. 68, n. 8, p. 1522-1530, 2021.

DUTTA, D, et al. Green synthesized cerium oxide nanoparticle: A prospective drug against oxidative harm. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.i], v. 147, p. 45-53, 2016.

FARIA, H. D. et al. New advances in restricted access materials for sample preparation: A review. **Analytica Chimica Acta**, [s.i], v. 959, p. 43–65, 2017.

FARAJI, M.; YAMINI, Y.; REZAEI, M. Journal of the Iraian. **Chemical Society**, [s.i], v. 7, p. 1- 37, 2010.

FAYAZI, M. et al. Preparation of molecularly imprinted polymer coated magnetic multi-walled carbon nanotubes for selective removal of dibenzothiophene. **Materials Science in Semiconductor Processing**, Iran, v. 40, p. 501–507, 2015.

FEBRIANTO, J. et al. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials**, [s.i], v. 162, p. 616- 645, 2009.

FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C. B.; ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Campinas, v. 44, n. 3, p. 361–375, 2008.

FIGUEIREDO, E. C.; BORGES, K. B.; QUEIROZ, M. E. C. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. 1. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

FIGUEIREDO, E. C. et al. On-line molecularly imprinted solid-phase extraction for the selective spectrophotometric determination of nicotine in the urine of smokers. **Analytica Chimica Acta**, [s.i.], v. 635, n. 1, p. 102–107, 2009.

FIRMINO, F. Potencial terapêutico da fenitoína na cicatrização de radiodermites. **Escola Anna Nery**, [s.i.], v. 11, n. 1, p. 143–149, 2007.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, [s.i.], v. 156, n. 1, p. 2-10, 2010.

FONTANIVE, V. C. P. et al. Aspectos físicos e biológicos de nanopartículas de ferritas magnéticas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Paraná, v. 35, n. 4, p. 549-558, 2014.

FRANCISQUINI, E; SCHOENMAKER, J; SOUZA, J. A. Nanopartículas magnéticas e suas Aplicações. **Química Supramolecular e Nanotecnologia**, [s.i.], v. 269, p. 269-288, 2014.

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

GALVÃO, W. G. **Carbamazepina no estado sólido e sua susceptibilidade polimórfica**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2009.

GOLMOHAMMAD, M. et al. Synthesis and characterization of bar-like maghemite ( $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) as an anode for Li-ion batteries. **Ceramics International**, [s.i.], v. 48, n. 18, p. 27148–27153, 2022.

GUERREIRO, C. A. M. História do surgimento e desenvolvimento das drogas antiepilépticas. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, [s.i.], v. 12, n. 1, p. 18–21, 2006.

GUIMARÃES, I.R. et al. Modified goethites as catalyst for oxidation of quinoline: Evidence of heterogeneous Fenton process. **Applied catalysis A: General**, [s.i.], v. 347, n. 1, p. 89–93, 2008.

GUPTA, V. K.; NAYAK, A. Cadmium removal and recovery from aqueous solutions by novel adsorbents prepared from orange peel and Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, [s.i.], v. 180, p. 81–90, 2012.

HARKINS, W. D.; JURA, G. The Decrease ( $\pi$ ) of Free Surface Energy ( $\gamma$ ) as a Basis for the Development of Equations for Adsorption Isotherms; and the Existence of Two Condensed Phases in Films on Solids. **The Journal of Chemical Physics**, [s.i], v. 12, n. 3, p. 112–113, 1944.

HILL, C. An Introduction to Chemical Engineering Kinetics and Reactor Design. New York: John Wiley and Sons, 1977.

HOLANDA, L. M et al. Comportamento magnético de materiais por meio da mecânica estatística. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, [s.i], v. 42, 2020.

HO, Y. Isotherms for the sorption of lead onto peat: comparison of linear and non-linear methods. **Polish Journal of Environmental Studies**, Beijing, v. 15, n. 1, p. 81-86, 2006.

HUANG, W. et al. Selective Adsorption of Dibenzothiophene using Magnetic Molecularly Imprinted Polymers. **Adsorption Science & Technology**, Zhenjiang, v. 30, n. 4, p. 331–344, 2012.

HUANG, Y.; PENG, J.; HUANG, X. Allylthiourea functionalized magnetic adsorbent for the extraction of cadmium, copper and lead ions prior to their determination by atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, Austria, v. 186, n. 51, 2019.

JARDIM, I. C. S. L. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographica**, [s.i], v. 2, n. 1, p. 13–25, 2010.

KIM, Y. E. A. Arsenic removal using mesoporous alumina prepared via a templating method. **Environmental Science and Technology**, [s.i], v. 38, n. 3, p. 924-931, 2004.

JESUS, C. F. A. et al. **Síntese e caracterização de nanopartículas de maghemita associada à dextrana funcionalizada com rodamina B**. 2014. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Goiás, Goiás 2014.

JU, X. et al. Colloidal stability and catalytic activity of cerium oxide nanoparticles in cell culture media. **Royal Society of Chemistry**, [s.i], v. 10, p. 39373-39384, 2020.

KITTEL, C. Introdução à Física do Estado Sólido. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978.

KODAMA, H. et al. Effect of temperature on serum protein binding characteristics of phenytoin in monotherapy paediatric patients with epilepsy. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, [s.i], v. 26, n. 3, p. 175–179, 2001.

KOBLE, R. A.; CORRIGAN, T. E. Adsorption isotherms for pure hydrocarbons. **Industrial & Engineering Chemistry**, [s.i], v. 44, n. 2, p. 383-387, 1952.

KWAN, P; BRODIE, M. J. Phenobarbital for the treatment of epilepsy in the 21st century: A critical review. **Epilepsia**, Scotland, v. 45, n. 9, p. 1141–1149, 2004.

LAI, J. P. et al. Chromatographic characterization of molecularly imprinted microspheres for the separation and determination of trimethoprim in aqueous buffers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s.i], v. 372, n. 2, p. 391–396, 2002.

LANGMUIR, I. The dissociation of hydrogen into atoms. III. The mechanism of the reaction. **Journal of the American Chemical Society**, [s.i], v. 38, n. 6, p. 1145-1156, 1916.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, [s.i], v. 40, n. 9, p. 1361–1403, 1918.

LANGEVIN, P. Magnetisme et theorie deselectrons. **Annales de Chemie et de Physique**, [s.i], v. 5, n. 7, p. 70-127, 1905.

LAURENT, S. et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. **Chemical reviews**, [s.i], v. 108, n. 6, p. 2064-2110, 2008.

LEOD, T. C. O. M. **Metaloporfirinas e compostos salen como modelos biomiméticos do citocromo P450 no metabolismo de fármacos anticonvulsivante e antidepressivo**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

LE MOS, V.A. et al. New Materials for Solid-Phase Extraction of Trace Elements. **Applied Spectroscopy Reviews**, [s.i], v. 43, n. 4, p. 303–334, 2008.

LIMA, É. C.; ADEBAYO, M. A.; MACHADO, F. M. Kinetic and Equilibrium Models of Adsorption. **Carbon nanomaterials as adsorbents for environmental and biological applications**, [s.i], p. 33–69, 2015.

LIN, Z. et al. Application of magnetic molecularly imprinted polymers in the detection of malachite green in fish samples. **Food Chemistry**, China, v. 200, p. 32–37, 2016.

LIU, H. et al. Simultaneous determination of carbamazepine, phenytoin, phenobarbital, primidone and their principal metabolites by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. **Journal of Chromatography**, [s.i], v. 616, p. 105-115, 1993.

LIU, Y.; YU, H., ZOU, D. One-Step Synthesis of Metal-Modified Nanomagnetic Materials and Their Application in the Removal of Chlortetracycline. **ACS Omega**, [s.i], v. 5, n. 10, p. 5116-5125, 2020.

LIU, Y.; LIU, Y. J. Biosorption isotherms, kinetics and thermodynamics. **Separation and Purification Technology**, [s.i], v. 61, n. 3, p. 229–242, 2008.

LINDEN, R. et al. Determinação simultânea de carbamazepina, fenitoína e fenobarbital em sangue seco em papel por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, Novo Hamburgo, v. 37, n. 6, p. 1067-1071, 2014.

LINDEN, R. et al. Determinação simultânea de topiramato, carbamazepina, fenitoína e fenobarbital em plasma empregando cromatografia a gás com detector de nitrogênio e fósforo. **Quim. Nova**, [s.i.], v. 36, n. 5, p. 720-724, 2013.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, [s.i.], v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

MARTIN, D. H. *Magnetism in Solids*. Cambridge: M.I.T, 1967.

MARCOS, M. **Determinação de medicamentos antiepilépticos e anticonvulsivantes por UPLC-MS/MS**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2011.

MARIZ, S. R. et al. Development and validation of a method for phenobarbital in serum: anticonvulsant pharmacotherapy monitoring. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica**, [s.i.], v. 41, p. 632, 2020.

MCLINTOCK, I. S. Comments on the Elovich equation. **Journal of Catalysis**, [s.i.], v. 16, p. 126- 128, 1970.

MEDEIROS, P. A. D. et al. Development and validation of a method for phenobarbital in serum: anticonvulsant pharmacotherapy monitoring. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicadas - RCFBA**, [s.i.], v. 41, 2020.

MENDONÇA, E. S. D. T. et al. Effects of silica coating on the magnetic properties of magnetite nanoparticles. **Surfaces and Interfaces**, [s.i.], v. 14, p. 34-43. 2019.

MENDES, T. V. **Síntese e caracterização de polímeros de impressão molecular magnéticos de acesso restrito e avaliação da capacidade de exclusão de proteínas e de sorção seletiva de nicotina**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2018.

MORENO, R. A. et al. Diagnóstico, tratamento e prevenção da mania e da hipomania no transtorno bipolar. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v. 32 p, 39-48, 2005.

MOHAMMED, L. et al. Magnetic nanoparticles for environmental and biomedical applications: A review. **Particuology**, [s.i.], v. 30, p. 1-14, 2017.

MULLER, I. R.; LIZOT, L. L. F., LINDEN.; R. Validação de método para quantificação de carbamazepina e ácido valpróico em sangue capilar coletado com o OneDraw. **Persp Med Legal Perícia Med**, [s.i.], v.7, 2022.

MTHOMBENI, N. H.; MBAKOPIAND, S.; ONYANGO, M. S. Adsorptive Removal of Manganese from Industrial and Mining Wastewater. **Proceedings of Sustainable Research and Innovation Conference**, [s.i.], p. 36-45, 2016.

NÉEL, M. L. Théorie du trainage magnétique des ferromagnétiques en grains fins avec application aux terres cuites. **Annales de Geophysique**, [s.i], v. 5, p. 99-136, 1949.

NASCIMENTO, R. F. et al. **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014. *E-book*.  
Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/53271>. Acesso em: 22 jun. 2024.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Acesso em 2 fev. 2023.

NAVARRO, R. M.; PENA, M. A.; FIERRO, J. L. G. Methane Oxidation on Metal Oxides. Em Fierro, J. L. G.; Metal Oxides: Chemistry and Applications, CRC Press Inc., Boca Raton, 2006.

NELIKANTI, S. V; ALOK, K. M. Development and validation for estimation of primidone in bulk and pharmaceutical dosage forms by rp-hplc method. **International Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, India, v. 7, p. 105-123, 2017.

OLIVEIRA, L. C. A.; FABRIS, J. D.; PEREIRA, M. C. Óxidos de ferro e suas aplicações em processos catalíticos: uma revisão. **Química. Nova**, Minas Gerais, v. 36, p. 123-130, 2013.

ORTIZ, N. et al. Estudo da estabilidade química da magnetita utilizada como adsorvedor na remoção de compostos orgânicos de soluções. **Cerâmica**, São Paulo v. 49, p. 216-222, 2003.

OKUNOLA, A. A.; OJEDIRAN, O. J. Modeling of biosorption of pb(II) and zn(II) ions onto pamrh: langmuir, freundlich, temkin, dubininraduskevich, jovanovic, floryhuggins, fowler- guggenheim and kiselev comparative isotherm studies. **International Journal of Mechanical Engineering and Technology**, [s.i], v. 10, p. 1048-1058, 2019.

NANDI, P. K; PARSAD. R; GUPTA. V. K. Simultaneous Optimization of Incomplete Multi-Response Experiments. **Open Journal of Statistics**, [s.i], v. 5, n. 5, p. 430–444, 2015.

PATRICK, M. et al. Feasibility of Using Oral Fluid for Therapeutic Drug Monitoring of Antiepileptic Drugs. **Eur J Drug Metab Pharmacokinet**, [s.i], v. 46, p. 205–223, 2021.

PATSALOS, P. N; BERRY, D. J. Therapeutic Drug Monitoring of Antiepileptic Drugs by Use of Saliva. **Therapeutic Drug Monitoring**, [s.i], v. 35, n. 1, p. 4–29, 2018.

PATSALOS, P. N. et al. Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs in epilepsy: A 2018 update. **Therapeutic Drug Monitoring**, [s.i], v. 40, n. 5, p. 526–548, 2018.

PETRE, M.; STRAH, A. Therapeutic drug monitoring of anti-epileptic drugs. **Farmaceutski Vestnik**, [s.i.], v. 66, n. 1, p. 35–41, 2015.

PLAZINSKI, W.; DZIUBA, J.; RUDZINSKI, W. Modeling of sorption kinetics: the pseudosecond order equation and the sorbate intraparticle diffusivity. **Adsorption**, Poland, v. 19, n. 5, p. 1055–1064, 6 2013.

POOJA, K; SANDHYA, P. Simultaneous Estimation and Validation of Four Antiepileptic Drugs from Bulk and Formulations Using Reverse Phase HPLC. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.i.], v. 59, p. 20692, 2023.

QIAO, F. et al. Molecularly Imprinted Polymers for Solid Phase Extraction. **Chromatographia**, [s.i.], v. 64, n. 11–12, p. 625–634, 2006.

QUI, H. et al. Critical review in adsorption kinetic models. **Journal of Zhejiang University- Science A**, [s.i.], v. 10, n. 5, p. 716–724, 2009.

QUEIROZ, M. E. C.; LANÇAS, F. M. Análise de fármacos em material biológico: acoplamento microextração em fase sólida “no tubo” e cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 880–886, 2005.

QUEIROZ, M. E. C.; MELO, L. P. Selective capillary coating materials for in-tube solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography to determine drugs and biomarkers in biological samples: A review. **Analytica Chimica Acta**, São Paulo, v. 826, p. 1–11, 2014.

R. R. Core Team, A Language and Environment for Statistical Computing, (2021).

RANGABHASHIYAM, S. et al. Relevance of isotherm models in biosorption of pollutants by agricultural byproducts. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s.i.], v. 2, n. 1, p. 398–414, 2014.

REIS, J. H. C. DOS. **Novos monômeros obtidos a partir do metacrilato de glicidila, bisfenol A e 4,4'-isopropilidenodioxolano: síntese, caracterização estrutural e propriedades de compósitos para utilização em resinas de restauração dental**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2006.

REDLICH, O.; PETERSON, D. L. A Useful Adsorption Isotherm. **The Journal of Physical Chemistry**, [s. i.], v. 63, n. 6, p. 1024–1024, 1959.

RÍOS, A. et al. Magnetic (nano)materials as a useful tool for sample preparation in analytical methods. A review. **Analytical Methods**, [s. i.], v. 5, n. 18, p. 4558, 2013.

ROCHA, G. P. et al. Orientações ao pediatra sobre o manejo das drogas psicoativas e antiepilépticas. Use of psychoactive and antiepileptic drugs: guidelines for pediatricians. **Journal of Pediatrics**, Porto Alegre, v. 80, p. 45–55, 2004.

RODRÍGUEZ, G. J. B. O Porque de Estudarmos os Materiais Magnéticos. **Rev. Bras. Ens. Fis**, São Paulo, v. 20, n. 4, p. 315–320, 1998.

ROY, S. B. Chapter 21 - Materials in a high magnetic field. **Materials Under Extreme Conditions**, [s.i], p. 755-789, 2017.

SANTOS, M. G. **Síntese, caracterização e emprego de Polímeros Molecularmente Impressos na extração de fármacos em amostras humanas de plasma e urina**. 2015. 89 f. Disseertação (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2015.

SANTOS, R. C. **Emprego de nanotubos de carbono de acesso restrito na extração direta de fármacos anticonvulsivantes seguido de análise por HPLC**. 2016. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2016.

SAFARIKOVA, M.; SAFARIK, I. Magnetic solid-phase extraction. **Magn. Mater**, [s.i], v. 194, p. 108–112, 1999.

SAGADEVAN, S.; CHOWDHURY, Z. Z.; RAFIQUE, R. F. Preparation and Characterization of Nickel ferrite Nanoparticles via Co-precipitation Method. **Mater Res**, India, v. 21, n. 2, 2018

SCHIERSCHER, T. et al. An isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (ID-LC-MS/MS)-based candidate reference measurement procedure (RMP) for the quantification of primidone in human serum and plasma. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, Boston, v. 62, n. 7, p. 1327-1338, 2024.

SILVA, P. Farmacologia. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2006.

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

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica**. Tradução da 8ª ed. norte americana, editora Thomson, 2006.

SOLER, M. A. G.; PATERNO, L. G. Nanomateriais Magnéticos. In: **Nanoestruturas**. Brasília, Elsevier, 2015. p. 173–221.

STONER, E.; WOHLFARTH, E. A mechanism of magnetic hysteresis in heteresis in heterogeneous alloys. **Phil. Tans. Roy. Soc**, [s.i], A-240, n. 826, p. 599-642, 1948.

SÖDERPALM, B. Anticonvulsants: aspects of their mechanisms of action. **European Journal of Pain**, [s.i], v. 6, p. 3–9, 2002.

SHAH, N. M. et al. A simple bioanalytical method for the quantification of antiepileptic drugs in dried blood spots. **Journal of Chromatography B**, [s.i], v. 923-924, p. 65-73, 2013.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC method development**. 2. ed. New York: John Wiley and Sons, 1997.

SPIVAK, D. A. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Estados Unidos, v. 57, n. 12, p. 1779–1794, 2005.

TAN, K. L.; HAMEED, B. H. Insight into the adsorption kinetics models for the removal of contaminants from aqueous solutions. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, Malasia, v. 74, p. 25–48, 2017.

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

TOTH, J. State equations of the solid gas interface layer. **Acta chimica Academiae Scientiarum Hungaricae**, [s.i], v. 69, p. 311–317, 1971.

TONHI, E. et al. Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Química Nova**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 616-623, 2002.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. Doubling the throughput of long chromatographic methods by using a novel dual LC workflow, Application Note 72601. Disponível em: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/an-72601-dual-lcdoubling-throughput-an72601-en.pdf>. Acesso em: 20 de junho de 2024.

U.S Food and Drug Administration, Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, (2001).

VIANA, J. L. M.; MENEGÁRIO, A. A.; FOSTIER, A. H. Preparation of environmental samples for chemical speciation of metal/metalloids: A review of extraction techniques. **Talanta**, Brasil, v. 226, 2021.

WOLMAN, F. J. et al. Peptide imprinted polymer synthesized by radiation-induced graft polymerization. **Reactive and Functional Polymers**, Argentina, v. 66, n. 11, p. 1199–1205, 2006.

WANG, X. N. et al. One-step synthesis of mussel-inspired molecularly imprinted magnetic polymer as stationary phase for chip-based open tubular capillary electrochromatography enantioseparation. **Journal of Chromatography A**, [s.i], v. 1362, p. 301–308, 2014.

WANG, J. et al. Amino-functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>–SiO<sub>2</sub> core– shell magnetic nanomaterial as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal. **Journal of Colloid and Interface Science**, China, v. 349, p. 293–299, 2010.

WU, M.; HUANG, S. Magnetic nanoparticles in cancer diagnosis, drug delivery and treatment (Review). **Mol Clin Oncol**, [s.i], v. 7, p. 738-746, 2017.

WU, F. C.; TSENG, R. L.; JUANG, R. S. Characteristics of Elovich equation used for the analysis of adsorption kinetics in dye-chitosan systems. **Chemical Engineering Journal**, Taiwan, v. 150, n. 2-3, p. 366-373, 2009.

YAN, H.; ROW, K.H. Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.i], v. 7, p. 155-178, 2006.

YIN, S. J.; ZHAO, J.; YANG, F. Q. Recent applications of magnetic solid phase extraction in sample preparation for phytochemical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, China, v. 192, p. 113675, 2021.

YIN, J. et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction for rapid screening of mycophenolic acid in human plasma. **Journal of Chromatography B**, China, v. 844, n. 1, p. 142–147, 2006.

ZENG, H. et al. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers for separating rutin from Chinese medicinal plants. **The Analyst**, [s.i], v. 137, n. 10, p. 2503, 2012.

## ANEXO

### ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário(a), do projeto de pesquisa POLI (ÁCIDO METACRÍLICO-CO-ETILENO GLICOL DIMETACRILATO) NA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DISPERSIVA MAGNÉTICA DE ANTICONVULSIVANTES EM SALIVA SEGUIDO DE ANÁLISE POR HPLC, de responsabilidade do (a) pesquisador (a) Camila Gabriela Carrara. Leia cuidadosamente o que segue e me pergunte sobre qualquer dúvida que você tiver. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, e no caso de aceitar fazer parte do nosso estudo, assine ao final deste documento, que consta em duas vias. Uma via pertence a você e a outra ao pesquisador(a) responsável Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador(a) ou com a instituição. Em caso de recusa você não sofrerá nenhuma penalidade.

Ao ler os itens abaixo, você deve declarar se foi suficientemente esclarecido(a) sobre as etapas da pesquisa ao final desse documento.

1. Esta pesquisa tem por objetivo desenvolver um novo método e dispositivo de análise rápida para determinar/quantificar um mix de substâncias que agem no sistema nervoso central (fármacos ou substâncias de uso recreativo) em análise única por espectrometria de massas. Estas substâncias poderão estar presentes em amostras como sangue, urina e saliva e por isso, essas serão as amostras coletadas. É importante ressaltar que participantes que não tenham nenhum contato com essas substâncias são igualmente importantes para a pesquisa devido a utilização desse tipo de amostra na etapa de desenvolvimento do método (onde adicionamos propositalmente uma concentração conhecida de determinado composto na amostra (sangue, urina e saliva) APÓS a coleta das mesmas). Não será administrado nenhum medicamento ou substância a nenhum dos participantes assim como não será pedido para que nenhum deles utilize de substâncias somente para realização do teste. Os participantes usuários, deverão ser usuários das substâncias e utilizarem as mesmas por prescrição médica (no caso dos fármacos

que agem no sistema nervoso central) ou por livre e espontânea vontade (no caso de substâncias de recreação como nicotina presente no cigarro, por exemplo).

2. A sua participação nesta pesquisa consistirá em preencher um questionário e doar amostras de saliva em coleta única, para o desenvolvimento da metodologia proposta e análise quantitativa de substâncias presentes nestas amostras ao aplicar o método desenvolvido. As amostras de saliva serão coletadas pelo próprio participante e após a coleta, as amostras serão imediatamente armazenadas em ultrafreezer, no Laboratório de Análise de Toxicantes e Fármacos (LATF) – UNIFAL-MG, até o momento da análise. O questionário consistirá em uma série de perguntas com intuito de se obter informações pessoais e sobre o possível uso de substâncias atuantes no sistema nervoso central, conforme apresentado no anexo. Traçar esses parâmetros é essencial para se conhecer o perfil de cada participante e então relacionar com os resultados obtidos na análise. Os pesquisadores e os participantes portarão obrigatoriamente máscara facial e outros EPIs, de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde e da ANVISA, no momento, para a contenção do vírus SARS-CoV-2. Os participantes deverão responder com sinceridade sobre a administração dos medicamentos (quantas vezes toma por dia, qual a dosagem), no entanto, não será questionado em nenhum momento o motivo das administrações.

3. Durante a execução da pesquisa poderá ocorrer desconforto, vergonha ou constrangimento. Devido à coleta acontecer de forma presencial, riscos relacionados a covid-19 também podem acontecer. Por isso, é necessário que o participante tenha ciência que, para minimizar estes riscos, os procedimentos citados a seguir serão seguidos:

- a) As coletas serão agendadas no Laboratório de Toxicantes e Fármacos (LATF) da Unifal em sala ventilada (D301);
- b) Correto manuseio dos materiais e equipamentos utilizados para o procedimento, ao conhecimento do profissional, ao uso de equipamentos de proteção individual (luvas, máscara, gorros, etc.);
- c) O pesquisador fará a correta assepsia (lavagem de mãos, assepsia antes da entrega do tubo falcon para o participante);
- d) Serão utilizados materiais de coleta estéreis e descartáveis, com pessoal capacitado e paramentado (com os equipamentos de proteção individual adequados);

- e) Os procedimentos serão realizados em local reservado para evitar possíveis constrangimentos;
- f) O participante deverá estar em jejum de no mínimo 30 minutos para coleta da saliva e também realizar a lavagem da boca com água potável (bochechos leves).
- g) O estudo será suspenso imediatamente ao perceber algum risco ou dano à saúde do participante da pesquisa, não previsto no termo de consentimento.
- h) Ao final será entregue ao participante um lanche pós-coleta (como bolachas por exemplo).

4. Ao participar desse trabalho você contribuirá para o desenvolvimento de um preparo de amostra mais preciso o qual poderá beneficiar e favorecer outras pessoas em tratamento, e casos de monitorização terapêutica.

5. Sua participação neste projeto terá a duração de 5 a 10 minutos para preenchimento do questionário e coleta da amostra que será feita em um único dia (se for possível e ainda, se for confortável para o participante). Caso não seja possível, o participante deverá voltar ao laboratório para terminar a coleta em um melhor momento.

6. Você não terá nenhuma despesa por sua participação na pesquisa, sendo os questionários, aulas, cursos, palestras, consultas/exames/tratamentos/etc. totalmente gratuitos; e deixará de participar ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e não sofrerá qualquer prejuízo.

7. Você foi informado e está ciente de que não há valor econômico, a receber ou a pagar, por sua participação, no entanto, caso você tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, terá direito à buscar ressarcimento.

8. Caso ocorra algum dano, previsto ou não, decorrente de sua participação no estudo, você terá direito a assistência integral e imediata, de forma gratuita (pelo patrocinador e/ou pesquisador responsável), pelo tempo que for necessário; e terá o direito a buscar indenização.

9. Para o risco de divulgação de dados confidenciais, serão tomadas medidas minimizadoras: garantir sigilo em relação as suas respostas, as quais serão tidas como confidenciais e utilizadas apenas para fins científicos, assegurando a não identificação nominal, a confidencialidade e a proteção dados. Para assegurar a sua privacidade, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, identificá-lo(a), será mantido em sigilo. Caso você deseje, poderá ter livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que você queira saber antes, durante e depois da sua participação.

10. Você foi informado(a) que os dados coletados serão utilizados, única e exclusivamente, para fins desta pesquisa, e que os resultados da pesquisa, poderão ser publicados/divulgados através de trabalhos acadêmicos ou artigos científicos por profissionais da área.

11. Conforme o item III.2, inciso (i) da Resolução CNS 466/2012 e o Artigo 3º, inciso IX, da Resolução CNS 510/2016, é compromisso de todas as pessoas envolvidas na pesquisa de não criar, manter ou ampliar as situações de risco ou vulnerabilidade para os indivíduos e coletividades, nem acentuar o estigma, o preconceito ou a discriminação.

Por esses motivos:

**AUTORIZO ( ) / NÃO AUTORIZO ( )**

a coleta e divulgação de imagens/Fotografias/vídeos/som de voz para a presente pesquisa.

Adicionalmente,

**AUTORIZO ( ) / NÃO AUTORIZO ( )**

o uso de todos os materiais biológicos coletados durante este estudo para os fins explicitados neste Termo de Consentimento e que os mesmos sejam posteriormente armazenados no Laboratório de Análises de Toxicantes e Fármacos (LATF) da Unifal-MG.

12. Você poderá consultar o(a) pesquisador(a) Camila Gabriela Carrara, no seguinte

telefone

(12) 997971419 ou email [camila.carrara@sou.unifal-mg.edu.br](mailto:camila.carrara@sou.unifal-mg.edu.br) e/ou o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas (CEP/UNIFAL-MG\*), com endereço na Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, Cep - 37130-000, Fone: (35) 3701 9153, no e-mail: [comite.etica@unifal-mg.edu.br](mailto:comite.etica@unifal-mg.edu.br) sempre que entender necessário obter informações ou esclarecimentos sobre o projeto de pesquisa e sua participação.

*\*O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas (CEP/UNIFAL-MG) é um colegiado composto por membros de várias áreas do conhecimento científico da UNIFAL-MG e membros da nossa comunidade, com o dever de defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento científico dentro de padrões éticos.*

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_ nº \_\_\_\_\_, declaro ter sido informado (a) e concordo em participar, como participante, do projeto de pesquisa acima descrito.

Alfenas, de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

.....  
.....

(Assinatura do participante da pesquisa)

.....  
.....

(Assinatura do pesquisador responsável / pesquisador participante)