



DETECÇÃO FLUORIMÉTRICA DE SULFANILAMIDA EM ALIMENTOS POR MEIO DE PONTOS QUÂNTICOS REVESTIDOS COM POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS

Bianca Mortari¹; Ademar Wong¹; Rosa Fireman Dutra²; Maria Del Pilar Taboada Sotomayor¹; Sabir Khan³

¹Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Araraquara, SP, Brasil.

Laboratory of Biomedical Engineering, Department of Biomedical Engineering, Federal University of Pernambuco, 50679-901 Recife, Brazil

³Technological Development Center—CDTec, Postgraduate Program in Materials Science and Engineering, PPGCEM/UFPEL, Federal University of Pelotas, UFPel, CEP: 96010-610, Pelotas, RS, Brazil

bianca.mortari@unesp.br; sabir_chemist@yahoo.com

Palavras-Chave: Fármacos, QD@MIP, fluorescência

Introdução

As sulfonamidas constituem uma importante classe de fármacos com diversas aplicações, destacando-se principalmente por sua atividade antibacteriana. Embora seu uso na medicina humana tenha diminuído devido ao desenvolvimento de antibióticos mais eficazes e menos tóxicos e ao aumento da resistência bacteriana, esses compostos continuam sendo amplamente empregados principalmente na medicina veterinária (CAMPBELL, 1999; MORTARI, 2023). A sulfanilamida (SNL), considerada a molécula mais simples dessa classe, também é utilizada como precursor na síntese de outros derivados sulfonamídicos e, atualmente, apresenta aplicação principalmente tópica (SCHOLAR, 2007). Na produção animal, as sulfonamidas são empregadas no tratamento e controle de infecções, podendo ser utilizadas em animais destinados à produção de alimentos. Após sua administração, parte desses compostos pode ser excretada e alcançar diferentes compartimentos ambientais, incluindo solo e recursos hídricos. Além disso, resíduos de sulfonamidas podem permanecer em produtos de origem animal, como leite, ovos e mel (HAASNOOT, 2000). A presença desses resíduos em concentrações acima dos níveis permitidos representa uma preocupação para a saúde e a segurança alimentar, podendo estar associada a reações de hipersensibilidade e ao desenvolvimento de resistência antimicrobiana (SRIVASTAV, 2021). Dessa forma, o monitoramento de sulfanilamida em alimentos é importante para garantir a qualidade dos produtos, proteger a saúde dos consumidores e contribuir para o controle da disseminação de resistência antimicrobiana.

O desenvolvimento de métodos analíticos mais simples, seletivos e sensíveis constitui uma alternativa relevante para o monitoramento de resíduos de antibióticos em matrizes alimentares complexas. A Tecnologia de Impressão Molecular oferece uma estratégia promissora para obtenção de materiais sintéticos capazes de reconhecer seletivamente uma molécula-alvo. Os Polímeros Molecularmente Impressos (MIPs) apresentam cavidades de reconhecimento formadas durante a polimerização na presença do analito molde, permitindo sua posterior religação de maneira semelhante à interação entre anticorpos e antígenos (KHAN,



2018). Esses materiais apresentam vantagens como facilidade de preparação, estabilidade, baixo custo e elevada seletividade, sendo empregados em processos de separação, extração, pré-concentração e detecção (BELBRUNO, 2019; WONG, 2025). A combinação de MIPs com pontos quânticos (QDs) tem recebido crescente atenção para o desenvolvimento de sensores fluorescentes. QDs são nanomateriais semicondutores que apresentam propriedades ópticas diferenciadas, como elevada intensidade de emissão e boa fotoestabilidade (TURIEL, 2010). Quando associados a MIPs em uma arquitetura do tipo núcleo@casca (QD@MIP), o núcleo de QD fornece a resposta óptica, enquanto a camada de MIP atua como uma interface seletiva para o reconhecimento do analito (TURIEL, 2010; MORTARI, 2025). Essa combinação permite integrar, em um único nanomaterial, as propriedades fotoluminescentes dos QDs e a capacidade de reconhecimento molecular dos MIPs, favorecendo o desenvolvimento de sensores seletivos para matrizes complexas.

Diante desse contexto, este trabalho teve como objetivo desenvolver uma plataforma sensora fluorescente baseada em pontos quânticos de CdTe revestidos com polímero molecularmente impresso (CdTe QD@MIP) para a determinação seletiva de sulfanilamida em amostras de leite, ovo e mel. A proposta baseia-se na integração das propriedades fotoluminescentes dos QDs com a capacidade de reconhecimento molecular do MIP, empregando a supressão da fluorescência (quenching) como mecanismo de detecção. O desenvolvimento desse sistema é relevante por oferecer uma estratégia simples, seletiva e sensível para o monitoramento de resíduos de sulfanilamida em alimentos e, consequentemente, para a avaliação da segurança e qualidade desses produtos.

Material e Métodos

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e empregados sem purificação adicional. O CdCl_2 foi utilizado como precursor de cádmio, o telúrio em pó (Te) como precursor de telúrio e o NaBH_4 como agente redutor na síntese dos pontos quânticos de CdTe. O ácido 3-mercaptopropiônico (MPA) atuou como agente estabilizante e ligante de superfície do CdTe. Na síntese do MIP, a sulfanilamida (SNL) foi utilizada como molécula molde, o (3-aminopropil)triethoxisilano (APTES) como monômero funcional, o tetraetil ortossilicato (TEOS) como agente de reticulação (cross-linker) e a solução de amônia como catalisador da polimerização. HCl e NaOH foram utilizados para ajuste do pH, enquanto metanol e isopropanol foram empregados nas etapas de lavagem e purificação.

Os pontos quânticos (QDs) de CdTe foram sintetizados segundo Yang et al. (YANG, 2014), com modificações. Em um balão, 150 mL de água ultrapura foram desaerados com N_2 por 10 min, adicionando-se 216 mg de CdCl_2 e 192 μL de MPA. O pH foi ajustado para 9,0 com NaOH 0,1 mol L^{-1} e a mistura mantida a 90 °C. Paralelamente, 40 mg de Te e 30 mg de NaBH_4 foram adicionados a 9,5 mL de água, sob N_2 e agitação a 75 °C. A solução violeta formada foi transferida ao precursor de Cd e a reação mantida a 95 °C por 2 h. Os QDs foram precipitados com isopropanol (1:1, v/v), redispersos em água e armazenados à temperatura ambiente. Os QDs foram estabilizados com MPA, cujos grupos tiol se ligam à superfície, enquanto os grupos carboxilato permanecem disponíveis para a formação do polímero.

O sensor QD@MIP foi preparado com base em Yang et al. (YANG, 2014). Uma alíquota de 0,6 mL de QDs (≈ 8 mg) foi dispersa em 24 mL de água, desaerada com N_2 e agitada por 10 min. Foram adicionados 20 μL de APTES, 100 μL de TEOS e 150 μL de amônia,

mantendo-se a mistura sob agitação, à temperatura ambiente e em atmosfera inerte por 24 h. Em seguida, adicionaram-se 20 μL de APTES, 5,7 mg de SNL, 50 μL de TEOS e 30 μL de amônia, com nova agitação por 24 h. O material foi lavado com metanol/água (1:1), centrifugado, redisperso em 4,0 mL de água e armazenado ao abrigo da luz. O QD@NIP foi preparado nas mesmas condições, sem a adição de SNL. A Figura 1 esquematiza todas as etapas da criação do QD@MIP.

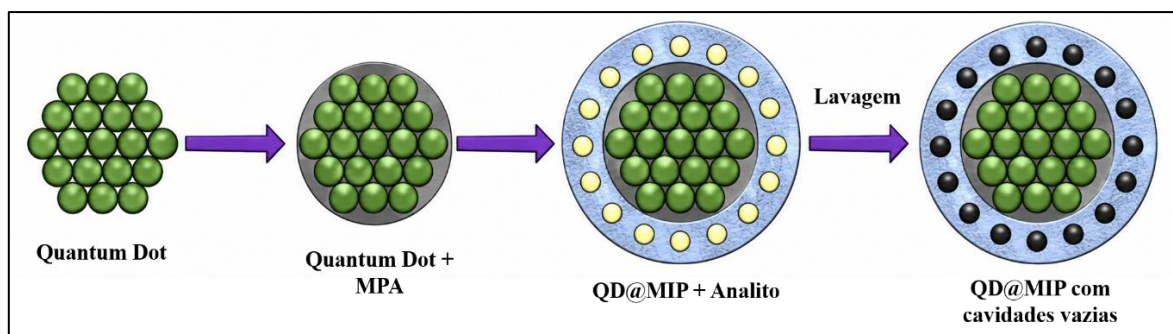


Figura 1 – Esquema geral da síntese de polímeros impressos com pontos quânticos (QD@MIPs).

As análises de fluorescência foram realizadas em espectrofluorômetro Lumex Fluorat-02 Panorama. FTIR foi obtido em espectrômetro Bruker Vertex 70 (400–4000 cm^{-1}), e a morfologia foi avaliada por FEG-SEM (JEOL JSM-7500F). A distribuição de tamanho foi determinada por DLS em Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Panalytical).

O efeito do pH (3, 5, 7, 9 e 11) sobre a interação SNL/QD@MIP foi avaliado com HCl e NaOH 0,1 mol L^{-1} . Após a otimização do tempo de incubação e do pH, foi construída a curva analítica e determinados os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ). Soluções de SNL de 10–60 ppm foram preparadas em água e analisadas em triplicata.

Resultados e Discussão

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para investigar os grupos funcionais presentes nos polímeros e pontos quânticos sintetizados. Como QD@MIP e QD@NIP foram preparados com os mesmos reagentes e procedimentos sintéticos semelhantes, suas composições químicas são essencialmente equivalentes. A principal diferença está na presença de sítios seletivos de reconhecimento no MIP, formados durante o processo de impressão molecular. Assim, ambos apresentam perfis de FTIR semelhantes. A Figura 2 apresenta os espectros de FTIR de QD@MIP, QD@NIP e do TEOS. Uma banda intensa em aproximadamente 1043 cm^{-1} foi observada nos dois polímeros, atribuída ao estiramento das ligações siloxano ($-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$). Uma banda semelhante foi observada para o TEOS, em 1043 cm^{-1} , confirmando a incorporação de estruturas de siloxano na rede polimérica. No espectro do TEOS, a banda em 2976 cm^{-1} corresponde ao estiramento C–H, enquanto os sinais em 956 e 783 cm^{-1} também estão relacionados a modos vibracionais C–H (WENCEL, 2013; BELUOMINI, 2017). Essas bandas foram significativamente reduzidas ou praticamente desapareceram nos polímeros, indicando o consumo ou modificação desses grupos durante a polimerização.

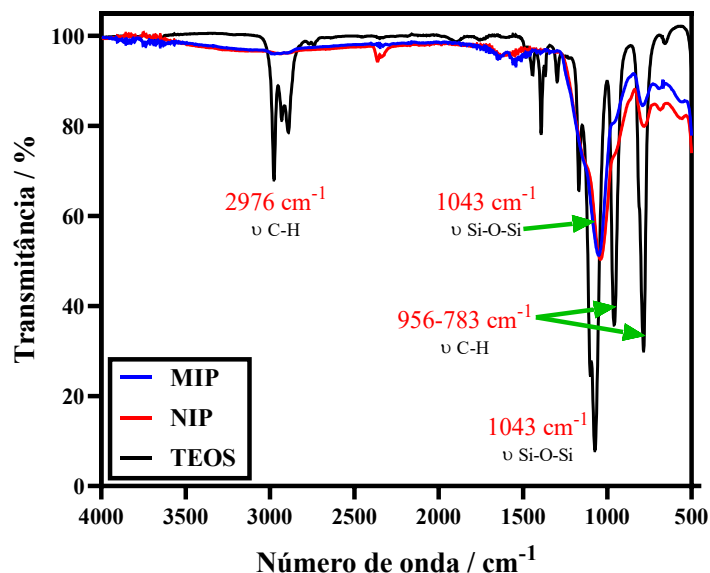


Figura 2 – Comparação dos espectros de FTIR obtidos para QD@MIP, QD@NIP e TEOS.

Para avaliar a formação e a uniformidade morfológica dos polímeros, foram obtidas imagens por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo FEG-SEM de QD@MIP e QD@NIP (Figura 3). Ambos apresentaram aparência geral semelhante; entretanto, o QD@MIP mostrou distribuição mais homogênea dos agregados e maior rugosidade superficial. O QD@NIP apresentou agregação mais irregular, comportamento associado à ausência de cavidades específicas de reconhecimento. A análise das imagens indicou diâmetro médio de 350 nm para o QD@MIP (calculado pelo software do equipamento). O tamanho médio do QD@NIP não pôde ser determinado de forma confiável devido à sua morfologia irregular.

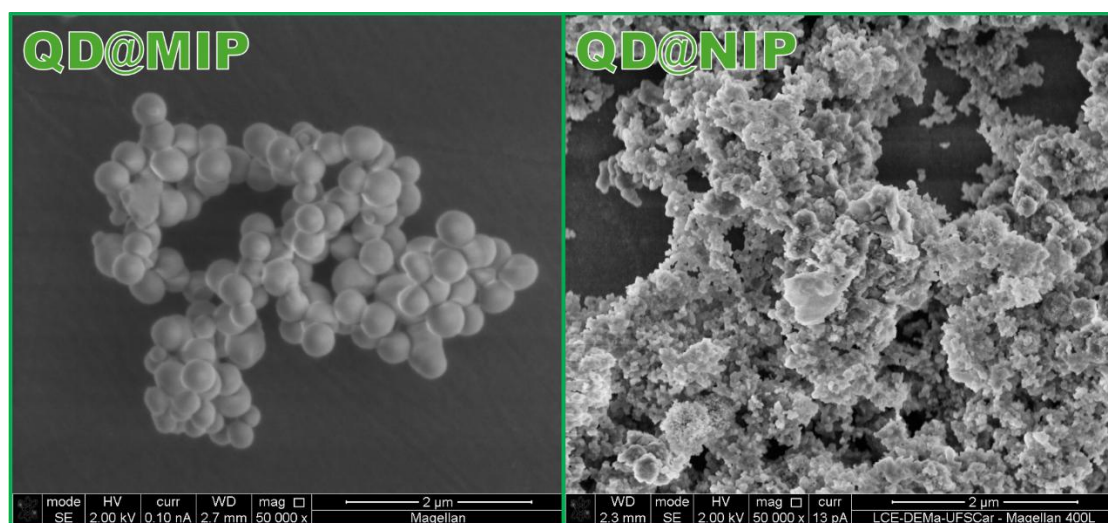


Figura 3 – Imagens FEG-SEM do QD@MIP e do QD@NIP, ilustrando suas morfologias superficiais e características estruturais.

Inicialmente, foi otimizado o parâmetro de pH da solução para estabelecer as melhores condições analíticas. A determinação da SNL foi baseada no comportamento de supressão da fluorescência dos pontos quânticos, ou seja, o aumento da concentração de SNL promoveu redução gradual da intensidade de fluorescência. Para avaliar a influência do pH sobre a interação entre QD@MIP e o analito, foram avaliados valores de pH 3, 5, 7, 9 e 11, ajustados com HCl e NaOH 0,1 mol L⁻¹. Como mostrado na Figura 4, a variação do pH não afetou significativamente a intensidade de fluorescência, indicando que a interação entre QD@MIP e SNL não é fortemente dependente do pH. Portanto, não é necessário ajustar o pH da amostra para a aplicação do sensor.

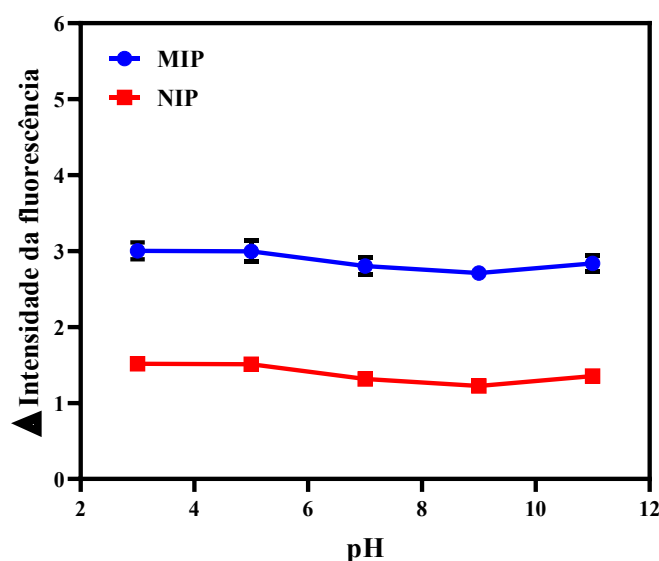


Figura 4 – Respostas de fluorescência obtidas para QD@MIP e QD@NIP em função do pH para a sulfanilamida. As medidas foram realizadas em triplicata (n = 3).

Após a otimização das condições experimentais, foi construída uma curva analítica utilizando diferentes concentrações de SNL, visando determinar a faixa linear, a sensibilidade e os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ). As curvas foram obtidas para QD@MIP e QD@NIP no intervalo de 10–60 ppm, com medidas em triplicata. A variação de fluorescência (ΔFluo) foi calculada pela diferença entre o sinal do branco e o sinal obtido para cada concentração de analito.

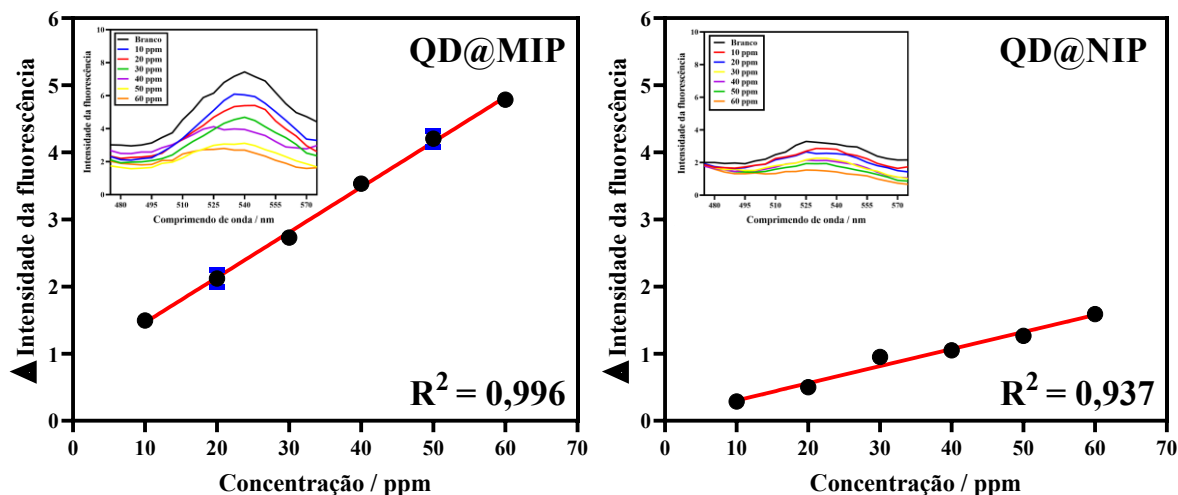


Figura 5 – Curvas analíticas de fluorescência em função da concentração de sulfanilamida (SNL), de 10–60 ppm, para QD@MIP e QD@NIP (n = 3), acompanhadas dos respectivos espectros. A variação de fluorescência foi calculada pela diferença entre o sinal do branco e o sinal obtido para cada concentração de SNL.

O QD@MIP apresentou resposta de fluorescência significativamente maior que o QD@NIP, indicando maior afinidade pela sulfanilamida e confirmando a eficiência da impressão molecular. O aumento da concentração de SNL provocou redução progressiva da fluorescência, caracterizando o efeito de supressão. As medidas foram realizadas em 540 nm, correspondente ao máximo de emissão dos pontos quânticos. A faixa de resposta foi de 10–60 ppm para QD@MIP e 20–60 ppm para QD@NIP. Os valores de LOD e LOQ do QD@MIP foram 1,72 e 5,21 ppm, respectivamente, enquanto para QD@NIP foram 6,69 e 20,3 ppm. Esses resultados demonstram a maior sensibilidade do material impresso.

A aplicabilidade do QD@MIP foi avaliada na determinação de SNL em amostras de alimentos de origem animal: leite desnatado, ovo homogeneizado e mel. As matrizes foram fortificadas com SNL em três concentrações: 10, 30 e 60 ppm. Para cada análise, foram utilizados 100 µg de QD@MIP dispersos em 3,0 mL da amostra previamente tratada, sob as condições otimizadas de 5 min de incubação e pH aproximadamente 7,0. As respostas analíticas estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Respostas de fluorescência obtidas para amostras de alimentos de origem animal fortificadas com sulfanilamida utilizando o sensor QD@MIP.

Concentração (ppm)	Δ Fluorescência					
	Leite		Mel		Ovo	
	MIP	NIP	MIP	NIP	MIP	NIP
10,0	0,75	0,22	0,87	0,06	0,81	0,13
30,0	2,39	0,83	2,46	0,80	2,63	0,87
60,0	4,52	1,32	4,45	1,45	4,24	1,20



A recuperação foi utilizada para avaliar o desempenho do sensor nas amostras reais. Valores inferiores a 100% indicam redução da interação entre SNL e QD@MIP causada pela matriz. Os resultados do QD@MIP obtidos na Tabela 2 foram satisfatórios para as três matrizes.

Tabela 2 - Valores de recuperação obtidos para a determinação de sulfanilamida em três amostras de alimentos utilizando o sensor QD@MIP proposto.

Concentração (ppm)	Recuperação (%)					
	Leite		Mel		Ovo	
	MIP	NIP	MIP	NIP	MIP	NIP
10,0	86,4	75,4	99,7	21,8	92,9	45,9
30,0	90,9	86,8	93,7	84,2	100,0	91,7
60,0	94,3	82,8	93,0	91,3	88,6	75,4

Para o QD@MIP, as recuperações obtidas foram, respectivamente, 86,4–94,3% no leite, 93,0–99,7% no mel e 88,6–100,0% no ovo, considerando as três concentrações avaliadas. O QD@NIP apresentou, de modo geral, valores inferiores, refletindo a predominância de interações inespecíficas na ausência dos sítios de reconhecimento formados pela impressão molecular. De modo geral, os resultados demonstram que o QD@MIP apresenta elevada afinidade e seletividade para sulfanilamida, atribuídas às cavidades específicas geradas durante a impressão molecular. O desempenho analítico observado em leite, ovo e mel indica que o sensor fluorescente desenvolvido apresenta potencial para a determinação de resíduos de sulfanilamida em matrizes alimentares complexas, com possíveis aplicações em segurança de alimentos e monitoramento ambiental.

Conclusões

Este trabalho mostrou o desenvolvimento de um novo sensor óptico QD@MIP, baseado na imobilização de um polímero molecularmente impresso sobre pontos quânticos de CdTe para a determinação seletiva de sulfanilamida (SNL). O desempenho foi comparado ao polímero não impresso (QD@NIP), confirmando a capacidade de reconhecimento molecular do sensor. A caracterização morfológica por FEG-SEM confirmou a formação do QD@MIP, que apresentou superfície mais rugosa e estruturada que o QD@NIP, compatível com a presença de cavidades seletivas de ligação. A análise por FTIR também confirmou a formação do polímero na superfície dos pontos quânticos. O QD@MIP apresentou eficiente religação da sulfanilamida, com melhor desempenho em pH neutro. O sensor apresentou LOD de 1,72 ppm e LOQ de 5,21 ppm. A aplicação em amostras de leite, ovo e mel apresentou recuperações satisfatórias, confirmando a adequação do sensor para a análise de alimentos reais após um simples pré-tratamento das amostras.



Agradecimentos

Agradeço ao grupo de trabalho Nanobiomimetic Sensor pelo apoio, colaboração e contribuição ao desenvolvimento deste trabalho. Agradeço também ao Programa Institucional de Pós-Doutorado (PIPD/CAPES) pelo suporte à pesquisa e ao Congresso Brasileiro de Química (CBQ) pela oportunidade de apresentar e compartilhar este trabalho com a comunidade científica, (CNPq no. 102213/2024-0 and 405916/2023-0), FAPERGS No. :25/2551-0002603-2

Referências

BELBRUNO, J. J. Molecularly imprinted polymers. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 1, p. 94-119, 2019.

BELUOMINI, M. A.; DA SILVA, J. L.; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. D-mannitol sensor based on molecularly imprinted polymer on electrode modified with reduced graphene oxide decorated with gold nanoparticles. **Talanta**, v. 165, p. 231-239, 2017.

CAMPBELL, K. L. Sulphonamides: updates on use in veterinary medicine. **Veterinary Dermatology**, v. 10, n. 3, p. 205–215, 1999.

HAASNOOT, W.; CAZEMIER, G.; DU PRE, J.; KEMMERS-VONCKEN, A.; BIENENMANN-PLOUM, M.; VERHEIJEN, R. Sulphonamide antibodies: from specific polyclonals to generic monoclonals. **Food and Agricultural Immunology**, v. 12, n. 1, p. 15–30, 2000.

KHAN, S.; HUSSAIN, S.; WONG, A.; FOGUEL, M. V.; GONÇALVES, L. M.; GURGO, M. I. P.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. Synthesis and characterization of magnetic-molecularly imprinted polymers for the HPLC-UV analysis of ametryn. **Reactive and Functional Polymers**, v. 122, p. 175-182, 2018.

MORTARI, B.; KHAN, S.; WONG, A.; DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR, M. Molecularly imprinted polymer-coated CdTe quantum dots for fluorometric detection of sulfonamide antibiotics in food samples. **Biosensors**, v. 13, n. 9, p. 877, 2023.

MORTARI, B.; WONG, A.; KHAN, S.; DUTRA, R. F.; TABOADA SOTOMAYOR, M. D. P. Advanced Fluorometric Detection of Sulfathiazole Antibiotics in Food Samples with Molecularly Imprinted Polymer Coated CdTe Quantum Dots. **ACS Omega**, v. 10, n. 30, p. 33910–33920, 2025.

SCHOLAR, E. Sulfanilamide. In: ENNA, S. J.; BYLUND, D. B. (ed.). **xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference**. New York: Elsevier, 2007. p. 1–5.

SRIVASTAV, G.; YADAV, B.; YADAV, R. K.; YADAV, R. A. Vibrational spectra and molecular structure of sulfanilamide: IR and low temperature Raman studies and DFT investigation of monomeric and dimeric forms. **Vibrational Spectroscopy**, v. 112, p. 103199, 2021.



TURIEL, E.; MARTÍN-ESTEBAN, A. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 668, n. 2, p. 87-99, 2010.

WENCEL, D.; DOLAN, C.; BARCZAK, M.; KEYES, T. E.; MCDONAGH, C. Synthesis, tailoring and characterization of silica nanoparticles containing a highly stable ruthenium complex. **Nanotechnology**, v. 24, n. 36, p. 365705, 2013.

WONG, A.; ZEB, S.; SANTOS, A. M.; FEITOSA, M. H. A.; KHAN, S.; MORAES, F. C.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. Detection of prostate cancer using an electrochemical sensor integrated with molecular imprinting technology and ionic liquid: a novel approach. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 29, p. 1255–1264, 2025.

YANG, Y.-Q.; HE, X.-W.; WANG, Y.-Z.; LI, W.-Y.; ZHANG, Y.-K. Epitope imprinted polymer coating CdTe quantum dots for specific recognition and direct fluorescent quantification of the target protein bovine serum albumin. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 54, p. 266-272, 2014.