

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida por
Maria do Carmo Hespanhol e aprovada pela Comissão Julgadora.

Campinas, 20 de Maio de 1993



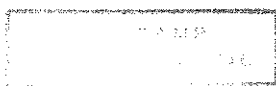
Prof^a Dr^a Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

ESTUDO DA IMOBILIZAÇÃO, VIA RADIAÇÃO GAMA, DA FASE
ESTACIONÁRIA LÍQUIDA, POLIMETILOCTADECILSILOXANO,
SOBRE SUPORTE DE SÍLICA PARA USO EM CROMATOGRAFIA
LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

MARIA DO CARMO HESPANHOL

TESE DE MESTRADO

ORIENTADORA: PROF.^a DR.^a ISABEL CRISTINA SALES FONTES JARDIM



Do Nick, pelo amor, amizade,
carinho e apoio

Dedico esta tese

AGRADECIMENTOS

- À Prof.^a Dr.^a Isabel Cristina Sales Fontes Jardim, pela sua amizade, apoio e compreensão, além da orientação dedicada e constante.
- Ao Prof. Dr. Kenneth Collins, pela colaboração nos trabalhos de laboratório.
- À Prof. Dr.^a Carol Collins pelo esclarecimento de dúvidas.
- Aos colegas do laboratório, Tânia, Pancho, Hormesino, Lúcia, Dedé, Zuim, Emerson, Pezzin, Sônia, Cláudia, Chico e Joãozinho, que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.
- Aos funcionários do Instituto de Química que contribuíram para a realização deste trabalho.
- À Tânia pelo apoio e ajuda nos trabalhos finais da tese.
- À IBRAS-CBO pela irradiação das amostras utilizadas neste trabalho.
- Ao Prof. José Salvador Barone (Puriquímica Ltda), pela análise de absorção atômica da sílica gel.
- Ao Prof. Arana Valera, UNESP, pelas medidas de porosidade.
- Ao CNPq pelo apoio financeiro.
- Ao Instituto de Química pela oportunidade concedida.
- Aos amigos, Cida, Nilton, Cláudia, Silvia, Guará, Cláudia M., Anna, cujo apoio e amizade contribuíram para a realização deste trabalho.
- À minha família pelo carinho e apoio.
- Ao Bom Deus

ÍNDICE

Lista de abreviações.....	iv
Lista de figuras.....	v
Lista de tabelas.....	viii
Resumo.....	x
Abstract.....	xii
I Introdução.....	1
I.1. Considerações Gerais sobre Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....	1
I.2. Fase Estacionária do Tipo Reversa.....	2
I.3. Fase Estacionária Líquida.....	2
I.4. Suporte Cromatográfico.....	2
I.5. Imobilização de Fases Estacionárias Líquidas para CLAE.....	7
I.6. Revisão Bibliográfica sobre Imobilização de Fases Estacionárias para CLAE, via radiação gama.....	9
I.7. Radiação Gama e seus Efeitos sobre Polímeros.....	10
I.8. Enchimento de Colunas.....	13
I.8.1. Métodos de Enchimento.....	15
I.8.1.1. Enchimento a seco.....	15
I.8.1.2. Enchimento por Suspensão com Alta Pressão.....	16
I.8.1.2.a. Densidade Balanceada.....	16
I.8.1.2.b. Densidade não Balanceada.....	16
I.8.1.2.c. Alta Viscosidade.....	16
I.8.1.2.d. Baixa Viscosidade.....	16
I.9. Avaliação de Colunas para CLAE.....	17
I.9.1. Equação de Van Deemter.....	22
II Objetivo.....	25
III Parte Experimental.....	26
III.1. Materiais.....	26
III.1.1. Reagentes e Solventes.....	26
III.1.2. Gases Empregados.....	27
III.1.3. Fase Estacionária Líquida.....	27
III.1.4. Fase Estacionária Comercial.....	27
III.1.5. Suporte Cromatográfico.....	27
III.1.6. Preparação das Colunas para CLAE.....	28
III.1.6.1. Colunas.....	28

III.1.6.2. Preparação dos Tubos Vazios.....	29
III.2. Equipamentos.....	29
III.3. Preparação do Material de Recheio.....	31
III.4. Irradiação do Material de Recheio.....	32
III.4.1. Ambiente de Irradiação.....	32
III.4.2. Irradiação das ampolas com as FE Preparadas.....	33
III.5. Avaliação das FE Preparadas.....	34
III.5.1. Testes Físicos com o Material de Recheio.....	34
III.5.1.1. Espectroscopia no Infra-vermelho.....	34
III.5.1.2. Medida de Área Superficial Específica.....	34
III.5.1.3. Análise Termogravimétrica.....	34
III.5.1.4. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	35
III.5.2. Testes Químicos com o Material de Recheio.....	35
III.5.2.1. Análise Elementar.....	35
III.5.2.2. Extração por Solventes.....	35
III.5.3. Testes Cromatográficos.....	37
III.5.3.1. Enchimento das Colunas.....	37
III.5.3.1.1. Seleção da Concentração da Suspensão.....	37
III.5.3.1.2. Procedimento de Enchimento das Colunas.....	37
III.5.3.2. Estudo do Aspecto das Partículas do Mate- rial de Recheio.....	38
III.5.3.2.1. Estudo do Método de Secagem da FE Preparada.....	38
III.5.3.2.2. Tratamento após a Irradiação das FE Preparadas.....	39
III.5.3.3. Estudo da Proporção da Fase Móvel.....	39
III.5.3.4. Condicionamento das Colunas.....	42
III.5.3.5. Avaliação Cromatográfica.....	43
III.5.3.6. Lavagem da Coluna com Fase Móvel.....	44
IV Resultados e Discussões.....	45
IV.1. Escolha da Quantidade Ideal de FEL sobre Suporte.....	45
IV.1.1. Preparação dos Materiais de Recheio.....	45
IV.1.2. Testes Químicos com os Materiais de Recheio Preparados..	46
IV.1.2.1. Extração por Solventes.....	46
IV.1.2.2. Análise Elementar.....	47
IV.1.3. Testes Físicos com os Materiais de Recheio Preparados...	48

IV.1.3.1. Medidas de Área Superficial Específica.....	48
IV.1.3.2. Espectroscopia no Infra-vermelho.....	49
IV.1.4. Testes Cromatográficos com os Materiais de Recheio	
Preparados.....	51
IV.2. Enchimento das Colunas Cromatográficas.....	53
IV.2.1. Seleção da Concentração da Suspensão.....	53
IV.3. Estudo do Aspecto das Partículas do Mate-	
rial de Recheio.....	55
IV.3.1. Estudo do Método de Secagem da FE	
Preparada.....	55
IV.3.2. Tratamento Após a Irradiação das FE	
Preparadas.....	55
IV.4. Estudo da Fase Móvel.....	57
IV.4.1. Escolha da Proporção dos Solventes da FM.....	57
IV.4.2. Estudo da Melhor Vazão da FM.....	61
IV.5. Estudo do Ambiente de Selagem.....	62
IV.6. Avaliação dos Materiais de Recheio Irrradiados.....	65
IV.6.1. Testes Químicos.....	65
IV.6.1.1. Extração por Solventes.....	65
IV.6.1.2. Análise Elementar.....	66
IV.6.2. Testes Físicos.....	68
IV.6.2.1. Medida de Área Superficial Específica.....	68
IV.6.2.2. Espectroscopia no Infra-vermelho.....	69
IV.6.2.3. Análise Termogravimétrica.....	69
IV.6.2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	72
IV.6.3. Testes Cromatográficos.....	73
IV.6.3.1. Avaliação das Colunas quanto a Blindagem	
dos grupos silanóis e presença de traços de	
metais.....	73
IV.6.3.2. Avaliação das Colunas quanto a Dose de	
Radiação.....	78
IV.6.3.3. Lavagem com Solvente em Coluna Cromatográfica.....	84
IV.6.3.4. Variação do Fator de Assimetria segundo a	
proporção da FM.....	85
V Conclusões.....	87
VI Referências Bibliográficas.....	90
Apêndice A.....	98

Lista de Abreviações

Abreviações

Significado

α	fator de separação
As.....	fator de assimetria a 10% da altura do pico
CLAE.....	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CG.....	Cromatografia Gasosa
CLFR.....	Cromatografia Líquida de Fase Reversa
CLL.....	Cromatografia Líquido-líquido
Dm.....	razão de distribuição de massas
f.....	velocidade do papel do registrador
F.....	vazão da fase móvel
FE.....	fase estacionária
FEL.....	fase estacionária líquida
FEQL.....	fase estacionária quimicamente ligada
FM.....	fase móvel
FN.....	fase normal
FR.....	fase reversa
h.....	altura equivalente a um prato teórico
k'.....	fator capacidade
kGy.....	kilogray (unidade de dose de radiação)
n.....	número de pratos teóricos
n/m.....	número de pratos teóricos por metro
μ	velocidade linear da FM
P.....	pressão
PMODS, ODS, C-18.....	polimetiloctadecilsiloxano
% C.....	porcentagem de carbono
Rs.....	resolução
S _{BET}	medida de área superficial específica
t _M	tempo de retenção de um soluto não retido
t _R	tempo de retenção de um soluto
t' _R	tempo de retenção de um soluto ajustado
vi.....	volume de injeção

LISTA DE FIGURAS

I.1. Estrutura do polimetiloctadecilsiloxano.....	3
I.2. Estrutura da superfície da sílica.....	5
I.3. Tipos de grupos silanóis presentes na superfície da sílica.....	5
I.4. Resíduos de metais presentes na superfície da sílica.....	6
I.5. Esquema representativo de um polimetiloctadecilsiloxano. A) Ligação química com o suporte e B) Ligações entre o suporte e o líquido estacionário e entre as cadeias poliméricas do líquido estacionário.....	8
I.6. Mecanismo de entrecruzamento do polidimetilsiloxano.....	12
I.7. Cromatograma com as medidas utilizadas na determinação de parâmetros cromatográficos.....	17
I.8. Medida e cálculo do fator de assimetria do pico.....	22
I.9. Curva da equação de Van Deemter mostrando as contribuições dos termos e a velocidade linear ótima.....	23
I.10 Curva de Giddings.....	24
III.1. Sistema utilizado para a selagem de ampolas contendo o material de recheio a ser irradiado, sob vácuo, nitrogênio e argônio.....	32
III.2. Esquema da aparelhagem utilizada para extração.....	36
III.3. Esquema do sistema de enchimento de colunas cromatográficas: A) coluna, reservatório de suspensão e reservatório de solvente de suspensão e B) bomba de enchimento.....	40
III.4. Esquema ampliado da coluna, do reservatório de suspensão e do reservatório do solvente de suspensão.....	41
IV.1. Variação de D_m em função da porcentagem de carbono das FE.....	47
IV.2. Variação da área superficial específica com o teor de carbono contido no material de recheio.....	48
IV.3. Espectros de infra-vermelho: A) PMODS; B) sílica;	

C)20% FEL/sup.; D)30% FEL/sup.; E)40% FEL/sup.;	
F)50% FEL/sup.; G)60% FEL/sup.; H)50% FEL/sup.	
extraída.....	50
IV.4. Cromatogramas mostrando a influência da % de FEL	
nos parâmetros cromatográficos: A)20% FEL/sup.;	
B)30% FEL/sup.; C)40% FEL/sup.; D)50% FEL/sup.;	
E)60% FEL/sup.; mistura 1: 1=acetona, 2=benzeno,	
3=tolueno e 4=naftaleno; coluna: 125 x 2,9 mm;	
F=0,3 mL.min ⁻¹ ; f=0,25 cm.min ⁻¹ ; FM: MeOH:H ₂ O	
(30:70); vi=5 µL; P=0 MPa; detecção: UV 254 nm.....	52
IV.5. Cromatogramas correspondentes a suspensão de 10	
e 20%, respectivamente, Figura A e B: FE com 50%	
de FEL; mistura 1: 1=acetona,2=benzeno, 3=tolueno	
e 4=naftaleno; FM:MeOH:H ₂ O (30:70); F=0,2mL.min ⁻¹ ;	
f= 0,25 cm.min ⁻¹ ; vi=5µL; col.: 125 x 2,9 mm;	
P=0 MPa; detecção: UV 254 nm.....	54
IV.6. Cromatogramas obtidos no estudo da proporção da	
FM.mistura 1: 1 = acetona, 2=benzeno, 3=tolueno	
e 4=naftaleno;f= 0,25 cm.min ⁻¹ ; vi=5µL; col.:125	
x 2,9 mm; detecção: UV 254 nm; P=0 MPa; FM: MeOH:	
H ₂ O: A)FM:70:30, B)FM:60:40, C)FM:50:50, D)FM:	
40:60, E)FM:30:70.....	58
IV.7. Variação de D _m com a porcentagem de MeOH na FM	
para a coluna com FE : A) irradiada a 40kGy sob	
nitrogênio e B) não irradiada com 30% de FEL.....	60
IV.8. Curvas de Van Deemter para verificar a vazão	
ótima de algumas colunas irradiadas a 40 e 100	
kGy sob nitrogênio, vácuo e ambiente, a 60 kGy	
nas condições ambiente e uma fase comercial(Par-	
tisil ODS).....	63
IV.9. Gráfico do número de pratos teóricos por metro	
versus a % de material extraído.....	67
IV.10. Espectros de infra-vermelho de FE irradiadas não	
extraídas e extraídas. A)60 kGy; B)60 kGy extra-	
ída; C)80 kGy; D)80 kGy extraída; E)150 kGy;	
e F)150 kGy extraída.....	70
IV.11. Curvas termogravimétricas das FE não irradiada	

e irradiadas a 60, 80 e 150 kGy.....	71
IV.12. Microscopia Eletrônica de Varredura: A) sílica gel; B) Partisil ODS; C) FE não irradiada; D) FE irradiada a 60 kGy.....	72
IV.13. Cromatogramas mostrando a eluição da mistura 5: 1=anilina, 2=nitronaftaleno e 3=naftaleno. A) FE não irradiada e B) FE irradiada a 60 kGy; FM: MeOH:H ₂ O, 50:50; v _i =5 μL; F=0,2 mL.min ⁻¹ ; f=0,5 cm.min ⁻¹ ; col. 3,8x125 mm; P=0 MPa; detecção UV: 254 nm.....	75
IV.14. Cromatogramas mostrando a eluição da mistura 3: 1=fenol, 2=anilina e 3=naftaleno; A) FE Partisil ODS e B) FE 60 kGy; v _i =5 μL; FM: MeOH:H ₂ O, A) 60:40 e B) 50:50; P=0 MPa; F=0,2 mL.min ⁻¹ ; f=0,5 cm.min ⁻¹ ; coluna: 3,8x125 mm; detecção UV: 254 nm.....	76
IV.15. Cromatogramas mostrando a eluição da mistura 4: 1=acetilacetona, 2=nitronaftaleno e 3=naftaleno; A) FE não irradiada, B) FE 60 kGy, C) FE 80 kGy e D) FE Partisil ODS; v _i =5 μL; F=0,2 mL.min ⁻¹ ; P=0 MPa; FM: MeOH:H ₂ O, A) 60:40 e B) 50:50; f=0,5 cm.min ⁻¹ ; coluna: 3,8x125 mm; detecção UV: 254 nm.....	77
IV.16. Variação da eficiência com a dose de irradiação.....	80
IV.17. Cromatogramas mostrando diversas doses de radiação. A) FE não irradiada, B) FE 40 kGy, C) FE 60 kGy, D) FE 80 kGy e E) FE 100 kGy; mistura 2: 1=acetona, 2=benzonitrila, 3=benzeno, 4=tolueno e 5=naftaleno; FM: MeOH:H ₂ O, 50:50; F=0,2 mL.min ⁻¹ ; f=0,5 cm.min ⁻¹ ; coluna: 3,8x125 mm; P=0 MPa; detecção UV: 254 nm.....	81
IV.18. Cromatogramas comparando-se: A) FE 80 kGy e B) FE Partisil ODS; mistura 2: 1=acetona, 2=benzonitrila, 3=benzeno, 4=tolueno e 5=naftaleno; F=0,2 mL.min ⁻¹ ; f=0,5 cm.min ⁻¹ ; v _i =5 μL; P=0 MPa; FM: MeOH:H ₂ O, 60:40; detecção UV: 254 nm.....	83
IV.19. Gráficos da lavagem da coluna recheada com material irradiado a 70 kGy. A) variação de n, B) variação de D _m e C) variação de α.....	84

LISTA DE TABELAS

I.1. Variáveis que afetam o enchimento das colunas.....	14
I.2. Eficiência mínima aceita para colunas recheadas por fabricantes.....	21
III.1. Propriedades da sílica gel utilizada.....	28
III.2. Doses e ambientes de selagem do material de recheio contendo 50% de PMODS.....	33
IV.1. Parâmetros obtidos na escolha da porcentagem de FEL sobre sílica gel(10 μ m e 6 nm).....	46
IV.2. Comparação entre os métodos de secagem dos materi- ais de recheio preparados.....	55
IV.3. Tratamento das FE preparadas e irradiadas.....	56
IV.4. Influência nos parâmetros cromatográficos da pro- porção de solventes MeOH:H ₂ O que compõe a FM.....	58
IV.5. Estudo da proporção de FM para a coluna irradiada a 40 kGy em atmosfera de nitrogênio.....	59
IV.6. Estudo da proporção de FM para a coluna irradiada a 100 kGy extraída sob condições ambiente.....	61
IV.7. Influência do ambiente de selagem nos materiais de recheio irradiados a 40, 60 e 100 kGy.....	64
IV.8. Porcentagem de material extraído em relação a quantidade inicial de material de recheio.....	66
IV.9. Teor de carbono nos materiais de recheio não irra- diados, irradiados e Partisil ODS.....	67
IV.10. Medidas de área superficial específica da sílica, Partisil ODS, material não irradiado e materiais irradiados a 60 e 80 kGy.....	68
IV.11. Valores obtidos na investigação da blindagem dos grupos silanóis para as colunas com materiais de recheio não irradiado e irradiado a 60 kGy.....	73
IV.12. Parâmetros cromatográficos obtidos para as colu- nas com FE irradiadas a 40 e 100 kGy.....	78
IV.13. Valores dos parâmetros cromatográficos obtidos para as colunas recheadas com o material de re- cheio não irradiado e irradiado em diversas doses	

de radiação gama.....78

IV.14. Parâmetros cromatográficos obtidos nas mesmas
condições experimentais para as colunas com FE
irradiada a 80 kGy e Partisil ODS.....82

IV.15. Variação do fator de assimetria com a proporção
de FM para diversas doses de irradiação.....86

RESUMO

TÍTULO: Estudo da Imobilização, via Radiação Gama, da Fase Estacionária Líquida, Polimetiloctadecilsiloxano, sobre Suporte de Sílica para uso em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

AUTORA: Maria do Carmo Hespanhol

ORIENTADORA: Prof^a Dr^a Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma técnica analítica de separação relativamente recente, uma vez que ela se tornou conhecida a cerca de 23 anos. Assim sendo, é uma técnica que necessita de maiores desenvolvimentos em vários de seus componentes, inclusive na coluna cromatográfica, que é diretamente responsável pela performance cromatográfica da mistura analisada.

A capacidade da coluna cromatográfica é determinada pelas suas dimensões, geometria e material de recheio. Para desenvolver este trabalho escolheu-se as colunas retas convencionais de 125 mm de comprimento por 2,9 e 3,8 mm de diâmetro interno. O material de recheio responde pelo poder de separação dos componentes de uma mistura, bem como pela sua faixa de aplicação. Assim sendo, a escolha da fase estacionária é de grande importância em CLAE.

Neste trabalho procurou-se desenvolver uma tecnologia de preparação de uma fase estacionária reversa do tipo C-18, através da imobilização, via radiação gama, do polimetiloctadecilsiloxano sobre sílica, de qualidade semelhante as fases estacionárias encontradas no mercado.

Através de testes físicos, químicos e cromatográficos verificou-se que a quantidade ideal de fase estacionária líquida (FEL) a ser depositada sobre a sílica, utilizando o método da evaporação de solvente⁵, foi de 50% de FEL.

Os materiais preparados foram submetidos a várias doses de radiação gama 20, 40, 60, 70, 80, 90, 100, 150 e 200 kGy e verificou-se que a irradiação melhorou os parâmetros cromatográficos, sobretudo a assimetria, que passou para uma faixa mais aceitável na literatura¹⁴.

Estudos feitos com a fase irradiada mostraram que ela possui uma boa estabilidade térmica, indicando que pode ser usada em temperaturas mais altas sem perda de fase líquida e possui uma boa resistência a lavagem com solventes, uma vez que ao submetê-la a lavagem com grandes quantidades de fase móvel esta permaneceu com os parâmetros cromatográficos praticamente constantes.

A performance cromatográfica obtida para as colunas recheadas com material irradiado a 60, 70 e 80 kGy foram semelhantes a da coluna recheada com material comercial (Partisil-ODS), sendo 60 kGy a dose que apresentou maior eficiência, mostrando assim que se conseguiu desenvolver uma tecnologia simples, barata e eficaz de preparação de fases estacionárias para a CLAE.

ABSTRACT

TITLE: Study of Immobilization, by Gamma Radiation, of the Liquid Stationary Phase, Polimethyloctadecylsiloxane, onto a silica support for use in High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

AUTHOR: Maria do Carmo Hespanhol

SUPERVISOR: Prof^a Dr^a Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

High performance liquid chromatography (HPLC) is a relatively recent analytical separation technique, that became known about 23 years ago. Thus, it is a technique that needs developments in various of its components, including the chromatographic column that is directly responsible for the chromatographic analysis of the sample.

The capacity of a chromatographic column is determined by its dimensions, geometry and packing material. For this work conventional columns 125 mm long with internal diameters of 2,9 and 3,8 mm were chosen.

The packing material separates the components of a mixture. Thus, the choice of stationary phase is of great importance in HPLC. This work sought to develop a technology for the preparation of a C-18 reversed stationary phase, through immobilization, by gamma radiation, of polimethyloctadecylsiloxane on silica, of similar quality to commercial C-18 stationary phases.

Through physical, chemical and chromatographic tests, the ideal amount of liquid stationary phase to be deposited on a silica, was 50%, utilizing the solvent evaporation method.

The prepared materials were submitted gamma radiation doses of 20, 40, 60, 70, 80, 90, 100, 150 and 200 kGy and it was verified that the irradiation improved the chromatographic parameters, above all the asymmetry, which presented a more acceptable after irradiation.

Studies with the irradiated phases showed that they have

good thermal stability, indicating that they could be used at higher temperatures without loss of liquid phase and also that they have good resistance to rising with solvents. The chromatographic parameters did not significantly change upon immobilization.

The chromatographic performance obtained for the columns packed with irradiated packing material which received 60, 70 and 80 kGy was analogous to a column packed with commercial material (Partisil ODS), the dose of 60 kGy being that which presented the highest efficiency. Thus a simple, inexpensive and effective technology for stationary phase preparations for HPLC was developed.

I.1. Considerações Gerais sobre Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia é essencialmente um método físico-químico de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases, uma das quais é estacionária (fase estacionária) enquanto a outra (fase móvel) move-se através dela em uma direção definida. Durante o movimento dos componentes da amostra ao longo do leito da fase estacionária ocorre a separação devido às diferenças na constante de distribuição dos componentes individuais da amostra entre as duas fases⁵⁵.

A CLAE tem se destacado como uma técnica de separação cromatográfica bastante sensível, versátil e rápida, o que tem tornado seu uso rotineiro em laboratórios²⁶. Isto tem levado a CLAE a se desenvolver enquanto técnica, principalmente no que diz respeito a produção de fases estacionárias mais estáveis e que atendam a ampla faixa de substâncias que a CLAE se propõe a separar.

Desta forma, na CLAE existem as fases estacionárias quimicamente ligadas (FEQL) que desenvolveram bastante nos últimos anos. As FEQL resultam da modificação da superfície do suporte, normalmente sílica, por um álcool, organoclorossilano ou organoalcóxissilano, cloreto de tionila seguido de um composto organometálico ou composto nitrogenado com formação, respectivamente: do éster silicato ($\equiv \text{Si-O-R}$); da ligação siloxano ($\equiv \text{Si-O-Si-R}$); da ligação silício-carbono ($\equiv \text{Si-CH}_2\text{-R}$) e da ligação silício-nitrogênio ($\equiv \text{Si-NH-R}$)¹³. Destas a que mais se utiliza é a ligação tipo siloxano. Dependendo da característica do grupo R, têm-se as fases apolares ou polares. Se o grupo R for polar (amino ou nitrilo) tem-se a fase normal (FN), se o grupo R for apolar (octil, octadecil ou fenil), tem-se a fase reversa (FR).

I.2. Fase Estacionária do Tipo Reversa

As fases estacionárias mais comumente utilizadas em CLAE são as fases reversas, onde a fase estacionária (FE) é mais apolar e a fase móvel (FM) é mais polar.

As fases reversas apresentam várias vantagens^{12,16}, tais como: a utilização de FM de menor custo e menos tóxica (água e metanol); estabilidade da FE frente a solventes; não há necessidade de pré-saturação da FM com a fase estacionária líquida (FEL); o equilíbrio dentro da coluna é conseguido rapidamente após mudança de FM; eluição por gradiente pode ser empregada; apresenta reprodutibilidade dos tempos de retenção, pequenas mudanças na região de $\mu\text{g.mL}^{-1}$, no conteúdo de água na FM, afetam muito pouco a separação e, finalmente campo amplo de aplicação.

O principal problema com FR é a presença de grupos silanóis residuais que são grupos silanóis da superfície do suporte, normalmente sílica gel, que permanecem sem reagir após a reação de preparação da fase estacionária. Dos $8,0 \mu\text{moles.m}^{-2}$ de grupos silanóis presentes cerca de aproximadamente 50% reagem resultando em cerca de $4,5 \mu\text{moles.m}^{-2}$ de silanóis ligados. Os grupos silanóis residuais têm caráter ácido, por isso interagem fortemente com solutos básicos, levando a picos assimétricos, baixa reprodutibilidade e possíveis adsorções irreversíveis¹⁹.

O que normalmente se tem feito para amenizar o problema dos grupos silanóis residuais é efetuar a reação destes com um grupo silano de menor cadeia (por exemplo, trimetilclorossilano, TMCS, ou hexametildissilazano, HMDS). Esse tratamento é conhecido como capeamento ("end capping"). Esse processo tende a diminuir os silanóis mais acessíveis restantes da ligação inicial, mas normalmente não elimina totalmente os silanóis residuais⁶⁵.

I.3. Fase Estacionária Líquida

Os polissiloxanos são largamente utilizados na preparação de

fases estacionárias, pois possuem boa estabilidade química e solubilidade limitada em relação a FM, além de serem encontrados comercialmente em um alto grau de pureza. Existem polissiloxanos polares e apolares já bastante conhecidos. Um dos polissiloxanos mais populares e estudado, é o constituído de um grupo alquil com 18 carbonos, denominado de polimetiloctadecilsiloxano (PMODS).

O polimetiloctadecilsiloxano (PMODS) é um polissiloxano com característica apolar, cuja estrutura é destacada na figura I.1⁵².

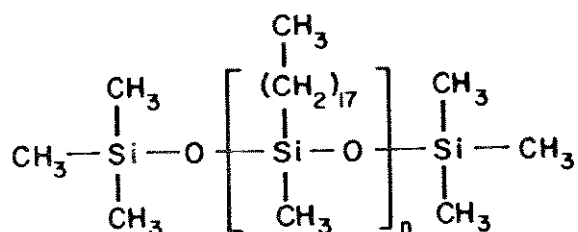


Fig. I.1.1. Estrutura do polimetiloctadecilsiloxano

Esses polímeros de siloxanos estão sujeitos a degradação quando submetidos a temperaturas iguais ou superiores a 150°C. Contudo, como normalmente em CLFR as análises são feitas a temperatura ambiente, isto não representa um problema quanto a sua utilização.

I.4. SUPORTE CROMATOGRÁFICO

A função do suporte cromatográfico na preparação de fases estacionárias é reter a FEL sobre ele, na forma de um filme homogêneo com menor espessura possível.

A estrutura do suporte, que influencia na cinética do processo de separação e nas propriedades químicas do suporte, é de grande importância nas separações cromatográficas. Mais relevante ainda é a superfície química do suporte, que junto com a natureza da FM, determinam o equilíbrio termodinâmico do soluto e, consequentemente, o seu tempo de retenção e o formato do pico³⁹.

Existem diferentes tipos de suporte orgânicos e inorgânicos tais como: sílica gel, alumina, poliestireno entrecruzado, celulose, dextrano, poliamida e carbono (grafite poroso) que têm sido desenvolvidos na tentativa de satisfazer a demanda do uso em CLAE¹⁵.

Todos estes suportes têm seu lugar na cromatografia líquida moderna. Porém, de maneira geral, os suportes devem apresentar algumas características como: força mecânica alta, para resistirem a pressões elevadas sem sofrerem quebras ou deformações, tamanho e formato das partículas definido, distribuição do tamanho dos poros estreita, natureza química e reprodutibilidade¹⁵.

A sílica gel é o suporte mais usado em CLAE, por ser um sólido rígido, de grande área superficial e mecanicamente estável a altas pressões, característica necessária no processo de enchimento por suspensão, bem como nas separações por cromatografia líquida moderna. A superfície da sílica possui uma alta concentração de grupos silanóis ($\equiv \text{Si-OH}$), os quais atuam como âncoras para ligações covalentes com vários compostos, favorecendo assim o desenvolvimento de diversas fases estacionárias. Além disso, as partículas de sílica gel podem ser encontradas em vários tamanhos, macro ou micro, em formas diferentes, esférica ou irregular e diversos graus de porosidade.

Entretanto existem algumas limitações ao uso da sílica gel. As fases estacionárias com sílica não podem ser operadas a pH maior que 8 e menor que 2 por longos períodos. Uma outra desvantagem da sílica é que no processo de modificação química da superfície da sílica nem todos os grupos silanóis são eliminados⁶³.

Como mencionado anteriormente, a estrutura do suporte é um dos parâmetros que determina a performance da coluna cromatográfica. Dois aspectos da sílica gel que influenciam nas propriedades da FE são os grupos silanóis e o conteúdo de metais¹⁵.

A estrutura da sílica gel, que pode ser visualizada na figura I.2, é constituída em seu interior basicamente de ligações do

tipo siloxano, enquanto que na sua superfície existem uma variedade de grupos superficiais, sendo eles: grupos siloxanos e grupos silanóis que podem ser de três tipos: isolados, vicinais e geminais. Normalmente ligadas a estes grupos, através de vários tipos de interação, encontram-se moléculas de água. Os diferentes grupos superficiais da sílica gel são mostrados na figura I.3.

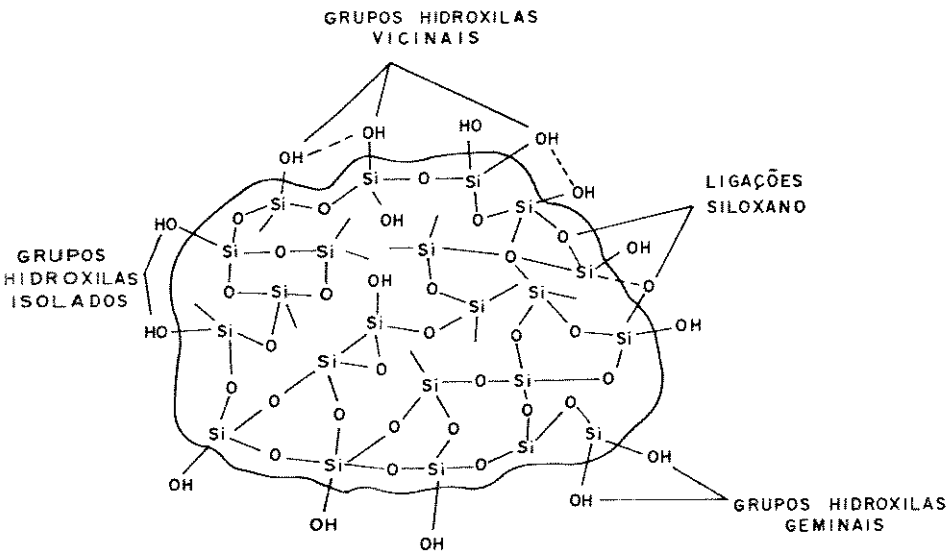


Fig. 1.2. Estrutura da superfície da sílica

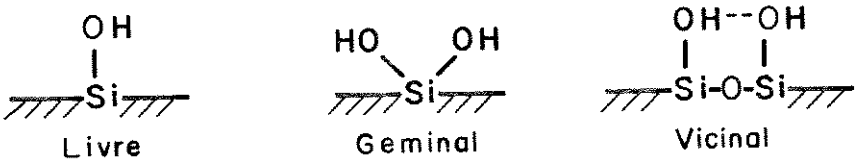


Fig.1.3. Tipos de grupos silanóis presentes na superfície da sílica

Os vários grupos hidroxilas diferem em sua reatividade química e processo de adsorção. Köhler e Kirkland⁴⁰ têm mostrado que os grupos silanóis geminais são os mais reativos entre os diversos tipos de grupos silanóis superficiais, desta forma estes praticamente não contribuiriam para a adsorção de compostos básicos, pois estes reagiriam com grupos orgânicos modificadores ou bloqueadores, no processo de capeamento, restando apenas os grupos silanóis isolados como responsáveis por esta adsorção.

O problema da reatividade dos silanóis residuais fica ressaltado na cromatografia de aminas que interagem com esses grupos provocando picos assimétricos, baixa reprodutibilidade e possíveis adsorções irreversíveis^{3,19}.

Esses problemas podem ocorrer, não só pela presença de grupos silanóis residuais, mas também pela presença de resíduos de metais pesados. Estes podem participar na interação direta com a amostra como um átomo de metal na superfície ou indiretamente pela influência à acidez de um silanol adjacente (metal interno). A figura I.4 mostra estas possíveis estruturas⁶⁵.



Fig. I.4. Resíduos de metais presentes na superfície da sílica

I.5. IMOBILIZAÇÃO DE FASES ESTACIONÁRIAS LÍQUIDAS PARA CLAE

Martin e Synge, em 1941, com o intuito de procurarem uma técnica analítica mais apropriada para os problemas de separação de vários aminoácidos, desenvolveram a cromatografia líquido-líquido (CLL), onde a FEL se encontrava mecanicamente adsorvida sobre o suporte sólido. Porém esta técnica apresentava o inconveniente de, após um certo tempo de uso, a FM arrastava a FEL através de dissolução. Isso provocava deterioração da coluna e baixa reprodutibilidade em separações sucessivas¹³.

Na tentativa de solucionar o problema da estabilidade das FEL existente em CLL, Halász e Sebastian³⁰ desenvolveram as fases estacionárias quimicamente ligadas (FEQL), que apresentavam uma ligação covalente entre a FEL e o suporte. Porém estas apresentavam o problema de adsorvidade de compostos básicos, mesmo quando submetidas ao capeamento, pois não se conseguia eliminar totalmente os grupos silanóis residuais.

Surgiram assim, as fases imobilizadas. A imobilização é o entrecruzamento entre as cadeias do polímero e/ou a ligação do polímero com a superfície do suporte, sobre a qual ele se encontra adsorvido. A imobilização normalmente faz com que a FE resista ao ataque de solventes e a temperaturas mais elevadas. As fases estacionárias imobilizadas também são denominadas de polimerizadas ou entrecruzadas ou não extraíveis. Após a imobilização verifica-se um maior bloqueio dos grupos silanóis do suporte, devido ao entrecruzamento da FEL, o que constitui em uma grande vantagem do processo citado.

A imobilização é um processo iniciado por radicais livres⁴⁶ assim alguns geradores de radicais, como radiação de baixa energia (calor)⁵³, agentes químicos como peróxidos²⁵, azocompostos⁶, ozônio¹¹ e radiação de alta energia como elétrons acelerados⁴⁷ ou radiação gama de cobalto-60^{27,62} podem ser usados. A imobilização está representada na figura I.5 para o polimetiloctadecilsiloxano sobre o suporte.

O interesse em utilizar a radiação gama na preparação de fases estacionárias no desenvolvimento do presente trabalho é porque ela oferece as vantagens de ocorrerem ligações a temperatura ambiente, não há necessidade de adição de reagentes químicos que alterariam a performance da coluna, não há formação de subprodutos indesejáveis²⁷.

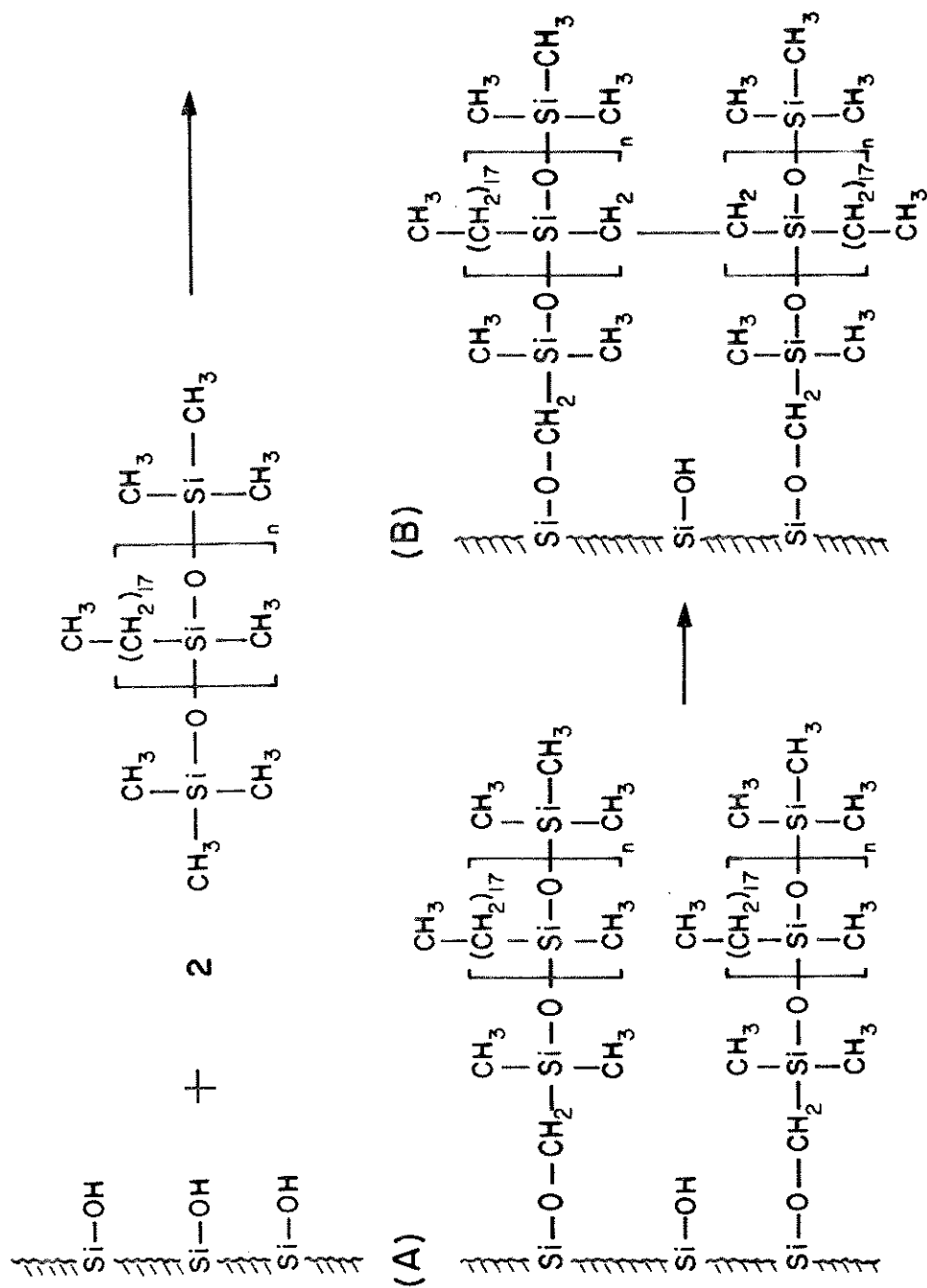


Fig.1.5. Esquema representativo de um polimetiloctadecilsiloxano imobilizado. A) Ligação química com o suporte e B) Ligações entre o suporte e o líquido estacionário e entre as cadeias poliméricas do líquido estacionário.

Além disso, é um método rápido de produção de radicais, pode ser utilizado diretamente sobre substâncias sólidas, devido a seu alto poder de penetração e finalmente, o seu custo, comparado ao uso de agentes químicos, é menor.

Existem poucas informações na literatura sobre a utilização de radiação gama como agente gerador de imobilização, principalmente de fases estacionárias utilizadas em CLAE. Sabe-se que esta foi usada com sucesso em colunas capilares e recheadas para cromatografia gasosa.^{4-5,7,20-23,27,35,58,60}

I.6. Revisão Bibliográfica sobre Imobilização de Fases Estacionárias para CLAE, via Radiação Gama

O uso de radiação gama para promover a imobilização de FEL para uso em CLAE é muito pouco explorado como poderá ser verificado nesta revisão.

Em 1983, Schomburg et al⁶¹ utilizaram radiação gama, peróxidos e tratamento térmico para promover a imobilização de polissiloxanos. Eles verificaram que a imobilização foi um sucesso, já que a performance cromatográfica das colunas recheadas com estes materiais foi muito boa. Também verificaram que estes métodos propiciaram uma boa cobertura dos grupos silanóis.

Em 1984, Schomburg et al⁶² comentaram em seu artigo que polibutadienos e polissiloxanos foram imobilizados sobre partículas de sílica, silanizadas ou não, usando-se várias doses de radiação gama e diferentes quantidades de alilmetacrilato como estabilizador de radicais. Eles observaram que os melhores resultados foram conseguidos quando reagiram a sílica com trimetilsilenolato, seguido de imobilização, independente ou não do uso de estabilizador de radicais.

Este mesmo grupo, em uma outra publicação⁸, sintetizaram novos tipos de fases estacionárias para CLAE do tipo reversa, recobrindo suportes (sílica ou alumina) com polímeros (polibutadienos ou polimetiloctadecilsiloxano) e promovendo entrecruzamentos e ligações químicas destes à superfície do suporte cromatográfico. Vários métodos e reagentes para silanização de sílicas, provenientes

de diferentes fabricantes, foram investigados e os resultados comparados com outros já publicados. Mais uma vez, a imobilização via radiação gama, foi eficiente, pois produziu colunas de alta qualidade.

Figge *et al*²⁴ utilizaram a radiação gama e o tratamento térmico com peróxido de dicumila para imobilizar polibutadienos, polimetilsiloxanos e cianometilpolissiloxanos sobre sílica. Eles observaram que a imobilização era muito mais eficaz quando o polímero possuía uma baixa concentração de ligações $\equiv\text{Si-H}$ e conseguiram polaridades específicas ao substituir oligômeros com diferentes grupos polares (como ciano). Os materiais sintetizados apresentaram excelentes propriedades de sistema de fase reversa, além de mostrarem uma estabilidade alta em relação a perda de fase estacionária em análises com fases móveis extremamente polares.

Em 1985, George²⁷, em sua tese de doutorado, fez uma breve investigação para verificar a aplicação de radiação gama na preparação de fases estacionárias para CLAE. Foram preparados materiais de recheio constituídos de polimetiloctilsiloxano e polimetiloctadecilsiloxano sobre sílica gel e a seguir submetidos a várias doses de radiação gama. Os resultados mostraram que a radiação gama é um método promissor na produção de materiais de recheio para CLAE, devendo ser portanto, objeto de pesquisas futuras.

Lyons⁴², em 1987, desenvolveu um trabalho onde investigou a imobilização, via radiação gama de fases estacionárias para CLAE. Os resultados indicaram que a radiação gama pode ser usada para imobilizar polimetiloctilsiloxano e polimetiloctadecilsiloxano sobre a superfície da sílica. Análise elementar e microscopia eletrônica foram feitas com o intuito de estudar a superfície dos materiais irradiados.

Anazawa², em 1992, em sua tese de mestrado, preparou fase estacionária imobilizada usando sílica gel como suporte e polimetiloctilsiloxano como FEL. Ela verificou que as fases após irradiação apresentaram maior eficiência, estabilidade térmica e um decréscimo na assimetria do pico. Além disso, ela observou que existe uma dose ideal para se efetuar a irradiação do material de recheio.

I.7. Radiação Gama e seus Efeitos sobre Polímeros

A radiação gama é uma radiação eletromagnética de origem

nuclear, de alta energia o que lhe confere um grande poder de penetração e uma elevada capacidade de interagir com espécies atômicas ou moleculares²⁷.

A dose de radiação absorvida é a quantidade de energia transferida da radiação ionizante à matéria irradiada, à razão de um Joule por unidade de massa em quilograma. É usualmente medida em Radiano (Rad) ou em Gray (Gy), sendo esta última indicada pelo Sistema Internacional de Unidades.

$$1 \text{ Rad} = 10^{-2} \text{ J.kg}^{-1} = 10^{-2} \text{ Gy}$$

Os raios gamas são particularmente propícios para efetuar modificações físicas em polímeros. O raio gama mais utilizado é o emitido por uma fonte de cobalto-60, um radioisótopo produzido pela ativação do cobalto-59 com nêutrons térmicos em um reator nuclear. Cada desintegração de um núcleo radioativo de cobalto gera dois fótons (raios gama) de energia 1,332 e 1,173 MeV, respectivamente. A meia-vida do cobalto-60 é de 5,26 anos e seu poder de penetração é muito alto, o que o torna ideal para a irradiação de polímeros²⁷.

Uma das observações feitas no estudo da irradiação de polímeros lineares é o fato que cada polímero entrecruza (crosslink) ou degrada (devido a cisões das cadeias) dependendo de sua estrutura. O entrecruzamento e a degradação são fenômenos simultâneos e competitivos, assim a estrutura final do polímero é determinada pelo processo que ocorrer em maior extensão. Os polímeros que entrecruzam são os de maior interesse para cromatografia e incluem: poliestireno, polietileno, poliésteres, borracha natural e polissiloxanos²⁷.

No entrecruzamento, as cadeias poliméricas são ligadas uma às outras resultando em estruturas ramificadas de peso molecular mais alto e esta união continua até que uma estrutura tridimensional seja alcançada. O entrecruzamento minimiza o deslizamento das cadeias poliméricas e isso provoca um aumento na viscosidade, resistência a solvente e uma maior estabilidade estrutural²⁷.

A degradação de um polímero se refere a mudanças nas propriedades físicas causadas por reações químicas que envolvem cisões na cadeia polimérica. Normalmente, estas reações químicas produzem polímeros com massa molecular menor⁵⁹.

Uma mudança nas propriedades de um polímero durante a irradiação é o resultado de uma sequência complexa de estágios intermediários físicos e químicos. A absorção de radiação de alta energia por um polímero resulta na ejeção de elétrons energéticos, os quais são capazes de ionizar um grande número de moléculas. A ionização produz intermediários ativos tais como: ions positivos, ions negativos e radicais livres, os quais induzem a maioria das transformações observadas no polímero. Assim, resumindo pode-se dizer que os processos básicos provocados pela radiação ionizante são:

- (1) Absorção da energia de radiação por elétrons intramoleculares causando excitação ou por elétrons intermoleculares, podendo transferir energia, resultando em ionização.
- (2) Ionização da molécula polimérica com subsequente recombinação do elétron e do par iônico.
- (3) Clivagem da ligação C-H, liberando um átomo de hidrogênio, formando um radical polimérico.
- (4) Recombinação de radicais poliméricos com formação de ligação intermolecular.

O processo que induz entrecruzamento de polímeros por radiação gama quase sempre envolve a abstração de hidrogênio produzindo um radical na molécula do polímero. A união de dois radicais poliméricos produz um entrecruzamento. Um exemplo é mostrado na figura I.6 para o polidimetilsiloxano. O mecanismo é semelhante para todos os polímeros do mesmo tipo que se entrecruzam²⁷.

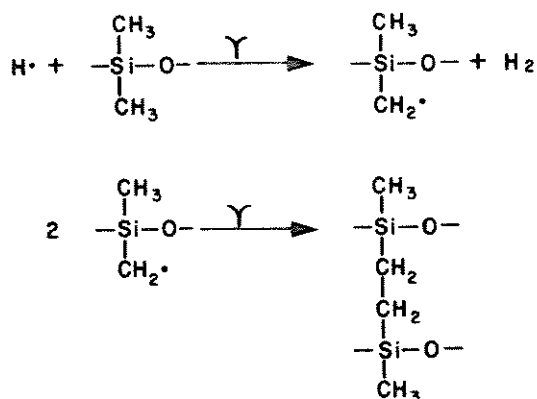


Fig. I.6. Mecanismo de entrecruzamento do polidimetilsiloxano

Desta forma, algumas considerações podem ser feitas com respeito ao estudo dos efeitos da radiação em polímeros:

- (1) Radiação gama é um iniciador efetivo de radicais em polisiloxanos.
- (2) Um átomo de hidrogênio é liberado com concomitante formação de um ion ou radical.
- (3) O hidrogênio removido é mais comumente vindo de um C-H alifático ou Si-H, porém menos comumente de um C-H aromático.
- (4) A reação inicial pode ser seguida pela quebra de várias ligações, cisões de cadeias, entrecruzamentos, ou pelos três processos. Cisão das cadeias com uma ligação C-C é mais comum que com uma ligação C-Si e mais raro em cadeias com ligação Si-O. Por isso, acredita-se que os polissiloxanos provavelmente entrecruzam-se, ao invés de degradarem-se²⁷.

I.8. Enchimento de Colunas

O essencial de todas as técnicas de enchimento de colunas é produzir um leito homogêneo, o qual resulte em colunas de alta eficiência e reprodutíveis³¹. Porém estes são requisitos difíceis de se conseguir, haja visto os vários métodos de enchimento existentes na literatura, o que deixa claro que ainda não se conseguiu um método ideal de enchimento de colunas. A explicação para tal fato é que a técnica de enchimento não só depende da metodologia empregada, como também do material de enchimento e da habilidade do usuário em encher colunas. Existem algumas variáveis, que se encontram na tabela I.1 que afetam o enchimento de colunas⁶⁹.

Além de existirem todas essas variáveis, existem dois problemas que devem ser evitados durante o enchimento de colunas de diâmetro interno de 1-5 mm, que utilizam partículas de tamanhos pequenos⁴⁵:

1. Sedimentação das partículas. Quando ocorre uma distribuição não homogênea do tamanho das partículas pode haver uma quantidade significativa de sedimentação durante o enchimento pelo método de

Qualidade do suporte

tamanho da partícula
distribuição do tamanho da partícula
tamanho do poro
distribuição do tamanho do poro
densidade da partícula
forma da partícula (esférica ou irregular)

Métodos de preparação da fase estacionária

reagentes de derivatização (mono-, di-, tricloro- ou etoxisilanos)
reação de derivatização (monomérica ou polimérica)
capeamento

Preparação da suspensão

solvente
qualidade do solvente
concentração da suspensão
temperatura da suspensão

Procedimento de enchimento

pressão
enchimento ascendente ou descendente
geometria do reservatório de enchimento
geometria da saída do reservatório de enchimento

Características da coluna

diâmetro interno
comprimento
polimento da parede
porosidade e espessura do filtro

suspensão, resultando em uma diminuição da eficiência da coluna.

2. Aglomeração das partículas. Nas partículas menores a área superficial é grande comparada às partículas maiores. Isto conduz a uma alta razão energia de superfície/massa que dá origem a forças eletrostáticas na superfície. As forças eletrostáticas superficiais podem causar aglomeração, impedindo que as partículas se arranjam livremente no leito da coluna. Durante o enchimento sob alta pressão, as partículas adquirem alta velocidade e ao passarem pelos orifícios estreitos e atritarem com as paredes podem ficar carregadas superficialmente originando aglomerados. A eficiência da coluna é determinada pelo tamanho dos vários aglomerados, bem como pelo diâmetro das partículas mais finas. A presença de grandes aglomerados provoca a diminuição da eficiência da coluna.

I.8.1. Métodos de Enchimento

O enchimento das colunas utilizadas em CLAE é efetuado a seco ou usando uma suspensão da fase estacionária em um solvente apropriado, enchimento por suspensão a alta pressão.

I.8.1.1. Enchimento a Seco

Este método é empregado para partículas de diâmetro maior que 20 μm . Existem várias maneiras de se fazer este enchimento, sendo o procedimento de Snyder e Kirkland⁶⁴ um dos mais utilizados. Um trabalho recente²⁹ estudou, com sucesso, a possibilidade de fazer o enchimento a seco usando partículas com diâmetros bem menores que 20 μm .

I.8.1.2. Enchimento por Suspensão com Alta Pressão

Este método é normalmente empregado para partículas de diâmetro menor que 20 μm , portanto deve-se tomar cuidado com os dois problemas já mencionados anteriormente, sedimentação e aglomeração de partículas. Em função disto, há a necessidade de escolher um solvente apropriado (solvente de suspensão). Existem algumas técnicas de enchimento que são denominadas segundo o solvente de suspensão empregado:

I.8.1.2a.Densidade Balanceada. Normalmente esta técnica é utilizada para partículas com diâmetros maiores que 10 μm ou intervalo grande de tamanho das partículas. A composição da mistura dos solventes de suspensão deve ter densidade semelhante as das partículas do material de recheio, evitando-se a sedimentação das partículas. Normalmente utiliza-se como solvente de suspensão uma mistura de hidrocarbonetos halogenados de alta densidade.

I.8.1.2b.Densidade Não Balanceada. Os solventes utilizados nesta técnica são tetracloreto de carbono, acetona, tetraidrofurano, ou seja normalmente solventes polares. O enchimento deve ser conduzido rapidamente para evitar a sedimentação das partículas.

I.8.1.2c.Alta Viscosidade. Esta técnica exige altas pressões no enchimento, pois utiliza-se solvente de alta viscosidade, tal como glicol, levando um tempo maior para completar o processo. Apresenta a vantagem de evitar a sedimentação das partículas, mas sua reprodutibilidade é baixa.

I.8.1.2d.Baixa Viscosidade²⁸. Esta técnica requer um tempo curto de enchimento, devido a viscosidade baixa dos solventes utilizados (éter, pentano) atingindo-se uma velocidade de fluxo alta.

I.9. Avaliação de Colunas para CLAE

Uma coluna nova, comprada ou recheada no laboratório, deve sempre ser testada antes de ser usada, e periodicamente retestada para que se conheça exatamente as condições da coluna.

Testes rotineiros de colunas são simples, eles requerem a geração de um simples cromatograma isocrático, que revela informações sobre a qualidade da coluna e do processo de enchimento⁶⁶. Outros testes mais específicos são usados para avaliar propriedades cromatográficas particulares tais como: hidrofobicidade, concentração de grupos silanóis residuais e/ou atividade de metais em fases quimicamente ligadas e distribuição do tamanho de poros. Um conhecimento dessas propriedades é frequentemente crucial para selecionar colunas, pois mesmo aquelas colunas notoriamente idênticas podem ter muitas características de separação diferentes⁵⁵.

Para verificar a performance cromatográfica da coluna calculam-se alguns parâmetros, que podem ser medidos a partir do cromatograma obtido. A figura I.7 tem por finalidade destacar alguns destes parâmetros.

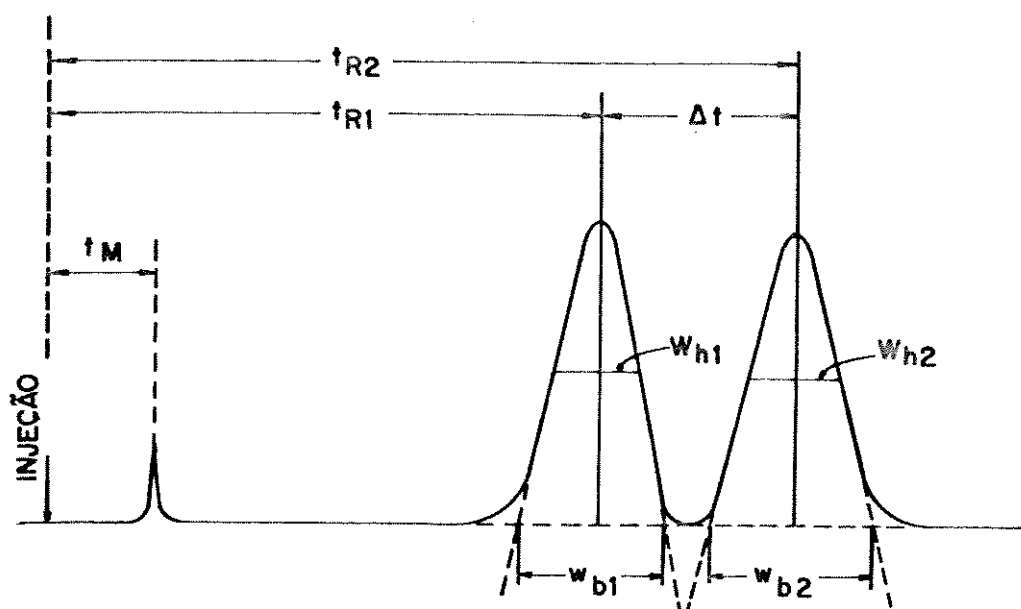


Fig.I.7. Cromatograma com as medidas utilizadas na determinação de parâmetros cromatográficos

O tempo de retenção de um soluto, t_R , é o tempo que o soluto gasta desde o momento da injeção até a saída do máximo do pico, ou seja, até o momento de ser detectado. E t_M é o tempo de um soluto não retido. Estes podem ser obtidos diretamente do cromatograma, caso o sistema CLAE possua um integrador eletrônico, ou a partir da equação (1), se o sistema utiliza um registrador potenciométrico:

$$t_R = \frac{d_R}{f} \quad \text{e} \quad t_M = \frac{d_M}{f} \quad (1)$$

onde, d_R = distância de retenção do soluto

d_M = distância de retenção de um soluto não retido
ou da FM

f = velocidade do papel do registrador

O tempo que o soluto fica retido na FE, tempo de retenção ajustado, t'_R , é obtido pela diferença entre o tempo de retenção do soluto e o tempo de retenção do soluto não retido.

$$t'_R = t_R - t_M \quad (2)$$

A razão de distribuição de massas, D_m , é determinada pela razão entre os tempos em que as moléculas do soluto ficam retidas na FE e percorrendo a coluna na FM, de acordo com a equação (3).

$$D_m = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M} \quad (3)$$

Nos vocabulários mais antigos o D_m é denominado de fator

capacidade, k' . Os valores ideais de D_m devem variar entre 2 e 10^{55} , valores acima de 10 significam uma forte interação do soluto com a FE, implicando em um longo tempo de análise. Valores de D_m menores que 2 podem ser prejudiciais à análise, pois há pouca interação do soluto com a FE.

A resolução, R_s , representa a separação entre dois picos adjacentes:

$$R_s = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{b1} + w_{b2}} = 1,177 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{h1} + w_{h2}} \quad (4)$$

onde, t_{R1} e t_{R2} = tempo de retenção de dois picos adjacentes

w_{b1} e w_{b2} = largura dos picos na linha de base

w_{h1} e w_{h2} = largura dos picos a meia-altura

Os valores de R_s considerados ideais, são os valores acima de 1,5, que significam que os picos apresentam boa separação.

Um outro parâmetro cromatográfico relacionado com a separação de dois picos adjacentes é o fator de separação, α . Ele é calculado pela razão entre as respectivas razões de distribuição de massas que estão, por sua vez, relacionadas aos tempos de retenção ajustados:

$$\alpha = \frac{D_{m2}}{D_{m1}} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} \quad (5)$$

O fator de separação é uma medida da seletividade de um

sistema cromatográfico, por isso é algumas vezes denominado de fator seletividade, seletividade ou retenção relativa. Assim, quanto mais seletivamente a FE reter o segundo componente que está sendo analisado, maior será o fator seletividade, ou seja, a retenção relativa destes componentes. Se $\alpha = 1$, não existem diferenças termodinâmicas entre os dois componentes em um dado sistema e eles não podem ser separados. Entretanto $\alpha \neq 1$, não significa que os picos estão totalmente separados, porque eles podem ser largos e estarem parcialmente sobrepostos. Consequentemente, não somente com valores elevados de α que se consegue separação, é necessário também que os picos sejam estreitos.

Para avaliar a eficiência de uma coluna cromatográfica normalmente calcula-se o número de pratos teóricos, n . Um prato teórico pode ser definido como uma etapa de equilíbrio do soluto entre a FE e a FM, sendo calculado pela equação (6).

$$n = 16 (t_R/w_b)^2 = 5,545 (t_R/w_h)^2 \quad (6)$$

O número de pratos teóricos é dependente do diâmetro e comprimento da coluna, do tamanho das partículas do suporte e da espessura do filme de FEL sobre o suporte. Na tabela I.2 encontram-se os valores mínimos de eficiência esperados para os diversos tipos e tamanhos de partículas de FE⁵⁴.

Como o número de pratos teóricos para um dado soluto teste depende das características da coluna sob avaliação, torna-se difícil utilizar este parâmetro para comparar colunas de dimensões diferentes. Para isto emprega-se a altura equivalente a um prato teórico, h , que é calculada através da equação (7).

$$h = \frac{L}{n} \quad (7)$$

onde, L = comprimento da coluna

Tabela 1.2. Eficiência mínima aceita para colunas recheadas por
fabricantes⁵⁴

TIPO	EFICIÊNCIA MÍNIMA (pratos/metro)
FASE REVERSA	
Pelicular (35 μm)	1000
Porosa (10 μm)	12000 - 20000
Porosa (5 μm)	35000 - 45000
Porosa (3 μm)	80000 - 100000
TROCA IÔNICA	
Pelicular (35 μm)	1000
Porosa (10 μm)	
Aniônica	10000
Catiônica	15000
Silica	15000
FASE NORMAL (adsorvente)	
Pelicular (35 - 45 μm)	2000 - 5000
Porosa (10 μm)	24000
Porosa (5 μm)	40000
EXCLUSÃO	
Polímeros (10 μm)	9000

Os valores de assimetria dos picos influenciam no valor de eficiência, isto é, o valor de n só será confiável se o fator assimetria, A_s , for menor ou igual a 1,2. Como uma regra geral, tem-se que colunas que mostram fatores de assimetria de picos maiores que 1,2 são de baixa qualidade e aquelas com valores maiores que 1,6 devem ser descartadas.^{54,55,64}

O fator de assimetria a 10 % da altura do pico pode ser calculado conforme mostra a figura I.8.

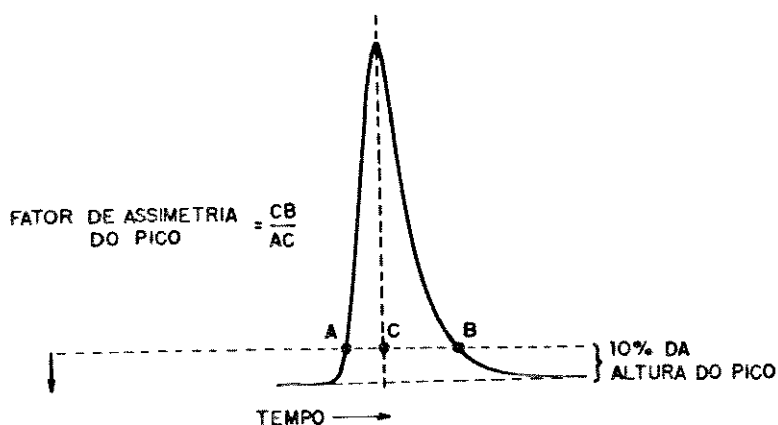


Fig.I.8. Medida e cálculo do fator de assimetria do pico

I.9.1. Equação de Van Deemter

A altura equivalente a um prato teórico, pode também ser representada pela equação de Van Deemter (8)⁵¹:

$$h = A + \frac{B}{\mu} + C \mu \quad (8)$$

onde, μ = velocidade linear da FM

$$\mu = \frac{L}{t_M} \quad (8.a)$$

O termo A, difusão turbilhonar, corresponde ao alargamento dos picos devido aos caminhos múltiplos percorridos pelas moléculas do soluto através do leito da coluna. Este termo é teoricamente dependente do diâmetro interno da coluna, do tamanho e forma das partículas do material de recheio.

O termo B, difusão molecular do soluto na FM, pode ser minimizado empregando-se maiores velocidades lineares da FM, porém deve-se tomar cuidado para não aumentar exageradamente a velocidade, pois isso poderá prejudicar a eficiência. Como o coeficiente de difusão em gases é bem maior que em líquidos este termo é mais significativo em CG do que em CLAE, onde pode ser considerado desprezível.

O termo C, corresponde ao alargamento dos picos devido à dificuldade de transferência de massa das moléculas do soluto da FE para a FM. Quanto maior for este termo, menor será a eficiência. A espessura do filme que recobre o suporte é de importância para este termo, pois são diretamente proporcionais. A figura I.9 mostra a contribuição de todos os termos da equação, bem como a curva de Van Deemter⁹. Pela curva de Van Deemter pode-se determinar o valor da velocidade linear mínimo, que possibilitará encontrar a vazão ótima, ou seja, a vazão que resultará em uma maior eficiência.

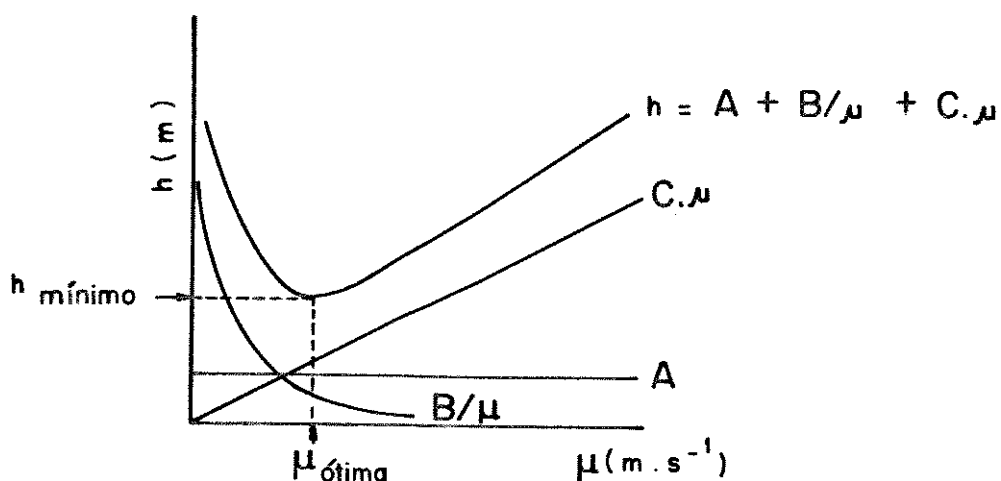


Fig.I.9. Curva da equação de Van Deemter mostrando as contribuições dos termos e a velocidade linear ótima.

Van Deemter ao desenvolver seus estudos sobre o processo cromatográfico, considerou o sistema em equilíbrio. Por outro lado Giddings, considerou o sistema cromatográfico num estado de não equilíbrio, o que foi demonstrado pelo formato dos picos "Gaussianos". Desta forma Giddings determinou que a curva obtida experimentalmente seria ligeiramente diferente da determinada por Van Deemter. A figura I.10 mostra a curva de Giddings. Ao observar esta curva pode-se notar que o aumento da vazão não significa uma perda considerável na eficiência, pois a curva não é tão ascendente como na curva de Van Deemter¹⁰.

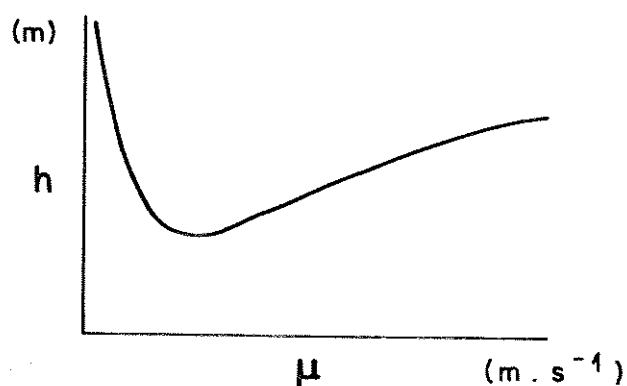


Fig. I.10. Curva de Giddings

II- OBJETIVO

O objetivo primordial deste trabalho foi pesquisar o processo de imobilização, por radiação gama, de uma fase estacionária líquida, polimetiloctadecilsiloxano, sobre suporte de sílica, visando desenvolver uma tecnologia de produção de fases estacionárias para CLAE, com eficiência e estabilidade semelhante as das fases disponíveis comercialmente.

Para alcançar este objetivo, o trabalho experimental foi dividido em algumas etapas:

- 1) Preparação do material de recheio, através do método de evaporação de solvente⁵.
- 2) Irradiação dos materiais de recheio preparados em diferentes doses de radiação gama.
- 3) Enchimento, por via úmida, das colunas com as fases estacionárias preparadas.
- 4) Análise dos materiais de recheio através de testes físicos e químicos, tais como espectroscopia no infra-vermelho, análise superficial específica pelo método de BET (Brunauer, Emmett e Teller), análise termogravimétrica, microscopia eletrônica de varredura, extração por solventes e análise elementar.
- 5) Avaliação cromatográfica das colunas com materiais preparados, utilizando-se para isto misturas sintéticas.
- 6) Avaliação da estabilidade frente a lavagem com solventes, de uma coluna recheada com fase estacionária preparada e irradiada.

III - PARTE EXPERIMENTAL

III.1. Materiais

III.1.1. Reagentes e Solventes

- acetilacetona p.a., Merck
- acetona Lichrosolv, Merck
- ácido nítrico p.a., Nuclear
- água deionizada, sistema Nanopure, Barnstead
- anilina p.a., Merck
- benzeno p.a., Merck
- benzonitrila p.a., Carlo Erba
- clorofórmio Lichrosolv, Merck
- cicloexano p.a., Vetec
- diclorometano p.a., Merck
- esponja de lã de aço, bombril, produzido pela Bombril S.A.
- éter etílico p.a., Nuclear
- n-hexano p.a., Merck
- n-heptano p.a., Aldrich
- metanol Lichrosolv, Merck
- metanol p.a., Merck
- naftaleno p.a., Carlo Erba
- pasta compacta, em barra, para lapidação de aço inox e acrílico, produzida pela Norton S.A. - Ind.e Com.e comercializada pela Norbrasa, referência Nb 2012
- n-pentano p.a., Carlo Erba
- tetracloreto de carbono p.a., Merck
- tolueno p.a., Cinética Química
- xileno p.a., Carlo Erba

III.1.2. Gases Empregados

- argônio, White Martins e Oxigênio do Brasil
- nitrogênio, White Martins e Oxigênio do Brasil
- oxigênio, White Martins e Oxigênio do Brasil

III.1.3. Fase Estacionária Líquida (FEL)

- polimetiloctadecilsiloxano (PMODS), da Petrarch Systems Silanes & Silicones. Possuindo as seguintes propriedades:

viscosidade (centistokes, a 50°C)	250 - 300
peso molecular	11000
densidade específica (g.mL ⁻¹ , a 25°C)	0,89
índice de refração (a 25°C)	1,443
tensão superficial (dina.cm ⁻¹)	39,5

III.1.4. Fase Estacionária Comercial

- Partisil ODS- 10, marca Whatman, fase polimérica, com 5% de carbono, com suporte totalmente poroso, irregular, com tamanho médio das partículas 10 μm , tamanho dos poros 8,5 nm e área superficial de 350 m².g⁻¹.

III.1.5. Suporte Cromatográfico

- sílica gel, irregular de tamanho médio de partículas de 10 μm , lote

9073, stock 143 1A, marca Davisil da Alltech Associates Inc. Applied Science Labs.

A tabela III.1 mostra as propriedades deste suporte, obtidas através da análise do mesmo.

Tabela III.1 Propriedades da sílica gel utilizada

PROPRIEDADES		VALORES
diâmetro nominal dos poros	(nm)	6
diâmetro médio dos poros (método de intrusão de mercúrio)	(nm)	9,9
volume específico dos poros (método mercúrio-hélio)	(mL.g ⁻¹)	1,24
área superficial específica (SBET) (método de BET)	(m ² .g ⁻¹)	387 ± 2
teor de metais (absorção atômica)	(µg.g ⁻¹)	109 (alumínio)
		40 (ferro)
		115 (titânio)
		330 (cálcio)
		105 (magnésio)
		215 (sódio)
		10 (potássio)
		≤0,5 (lítio)
		2 (crômio)
		≤1 (cobalto)
		≤1 (níquel)
		≤1 (chumbo)
		≤1 (manganês)
		≤5 (estanho)
		≤1 (cádmio)
		≤0,5 (cobre)
		≤0,5 (zinco)

III.1.6. Preparação das Colunas para CLAE

III.1.6.1. Colunas

- material dos tubos: aço inoxidável 316, sem costura, pois apresenta resistência a altas pressões e é um material quimicamente inerte.

- dimensões das colunas: comprimento 125 mm e diâmetro interno 2.9 e 3.8 mm, confeccionadas na Unicamp e recheadas com materiais preparados no laboratório e com a fase estacionária comercial.

III.1.6.2. Preparação dos Tubos Vazios

Os tubos das colunas foram polidos internamente, pois as paredes devem apresentar-se brilhantes e espelhadas. Isto se faz necessário para que as paredes internas do tubo fiquem lisas, evitando assim FM estagnada e um leito de coluna não homogêneo. A fase móvel estagnada pode provocar um aumento no volume morto com consequente alargamento de picos, afetando assim a eficiência da coluna cromatográfica.

Para polir os tubos, fixou-se numa furadeira de bancada uma haste de metal de diâmetro um pouco menor que o diâmetro interno do tubo a ser polido, envolveu-o com esponja de lã de aço. Espalhou-se uma camada homogênea de pasta de polimento sobre a esponja de lã de aço, encaixou-se o tubo na haste e com a furadeira ligada, fez-se movimentos para cima e para baixo por trinta minutos. A seguir lavou-se o tubo com uma sequência de 100 mL de ácido nítrico 20%, detergente, água de torneira, acetona, água deionizada e metanol. Depois de seco, os tubos foram observados contra a luz, num ângulo de aproximadamente 45°, para verificar o brilho das paredes internas. Caso o brilho não se apresentasse homogêneo repetia-se o procedimento.

III.2. Equipamentos

A. Cromatógrafo a líquido

- injetor Rheodyne 8125 com amostrador de 5 μ L
- bomba recíproca do tipo pistão de cabeça dupla, marca Waters,

modelo 510

- detector UV/Vis. de comprimento de onda variável, marca Isco, modelo V⁴ com microcela de 5,3 µL
- registrador Sargent - Welch, modelo DSRG

- B. Bomba Haskel de enchimento de colunas, modelo 51769, com faixa de pressão 6,9 a 344,8 MPa (1000 a 50000 psi).

- C. Fonte de cobalto-60 JS 6300, tipo industrial, fabricada pela AECL (Atomic Energy of Canada Limited), instalada na IBRAS-CBO-Ind. Cirúrgica e Ótica S.A. (Campinas-SP)

- D. Espectrofotômetro de infra-vermelho Perkin Elmer, modelo FT-IR 1600

- E. Analisador elementar Perkin Elmer, modelo 2400

- F. Analisador termogravimétrico Du Pont, modelo 9900 módulo 951

- G. Medidor de área superficial específica Micromeritics, Flow Sorb II, modelo 2300

- H. Microscópio Eletrônico de Varredura, Jeol JMS - T300

- I. Linha de vácuo com bomba de vácuo Sargent Welch Scientific Co., modelo 1400

- J. Ultra-som Sonifier B-12

- L. Furadeira de bancada, marca Schulz

- M. Balança analítica Fisher Scientific, modelo A-250, sensibilidade: ±0,1 mg

- N. Agitador magnético, modelo P.C.-351

- O. Agitador "roto-torque", Cole-Palmer Instrument Company, modelo 7637

- P. Rotoevaporador, Buchler Instruments

III.3. Preparação do Material de Recheio

A sílica foi escolhida como suporte porque possui grande área superficial, o que proporciona uma maior superfície para deposição do filme de FEL, além de resistirem a pressões relativamente altas.

A FEL C-18 é a mais utilizada entre as fases comerciais do tipo reversa, por isso é de interesse estudar os efeitos da radiação gama sobre a performance cromatográfica com este tipo de FEL.

Primeiramente, fizeram-se testes de solubilidade com a fase estacionária líquida (FEL), polimetiloctadecilsiloxano, que se mostrou solúvel em clorofórmio, xileno, cicloexano, tolueno, n-hexano, tetracloreto de carbono e n-pentano.

Escolheu-se o n-pentano como solvente de preparação do material de recheio por possuir um baixo ponto de ebulição, assim o mesmo poderia ser evaporado a temperatura ambiente. Schomburg *et al*⁶², em seus trabalhos utilizaram n-pentano como solvente na preparação de fases.

Para preparar o material de recheio, sílica recoberta com FEL, inicialmente fez-se a ativação da sílica a 150°C, em estufa, por 24 horas, a fim de que fossem removidas as moléculas de água da superfície da sílica, deixando os grupos silanóis livres para reagirem. A seguir dissolveu-se uma quantidade determinada de PMODS em uma quantidade conhecida de n-pentano. Adicionou-se a esta solução, lentamente e com agitação, uma quantidade determinada de sílica. Deixou-se agitando por três horas. Transferiu-se a mistura para uma placa de Petri e deixou-se evaporar o solvente. Este método é conhecido como método de evaporação de solvente⁵, sendo utilizado a relação massa/massa para suporte e FEL.

Os materiais de recheio preparados consistiram de 20, 30, 40, 50 e 60% m/m de FEL em relação à quantidade de material de recheio preparado. O volume de solvente utilizado foi sempre dez vezes a quantidade em massa de FEL mais suporte.

Quando a porcentagem ideal de FEL foi determinada, preparou-se uma maior quantidade de material de recheio (80 g), para ser irradiado e posteriormente avaliado.

III.4. Irradiação do Material de Recheio

III.4.1. Ambientes de Irradiação

As irradiações foram feitas em quatro ambientes de selagem: vácuo, nitrogênio, argônio e condições ambiente. Para tal colocou-se uma quantidade conhecida de material de recheio em ampolas de vidro pirex e fecharam-nas em seus respectivos ambientes. Para selar as ampolas sob vácuo, nitrogênio e argônio fez-se uso do sistema indicado na figura III.1.

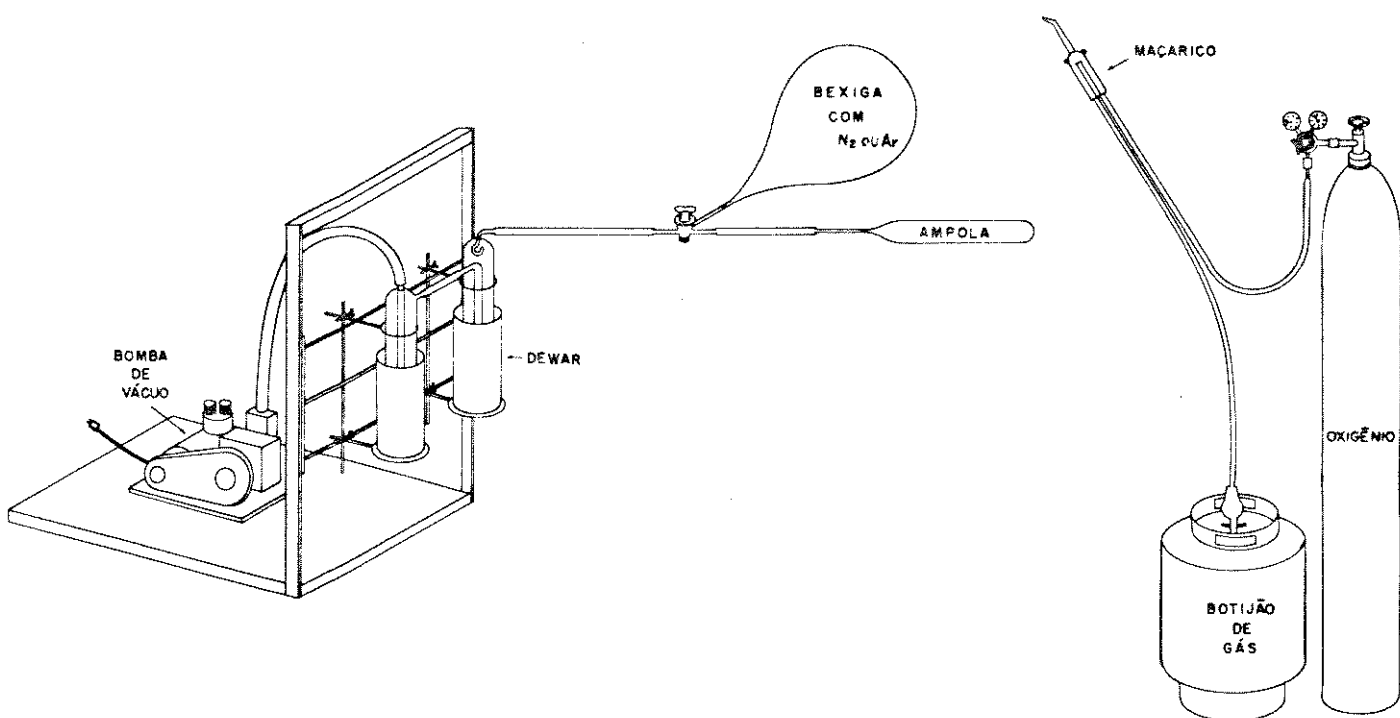


Fig.III.1.Sistema utilizado para a selagem de ampolas contendo o material de recheio a ser irradiado, sob vácuo, nitrogênio e argônio.

Para fechar as ampolas sob vácuo, fazia-se vácuo nas mesmas por cerca de 15 minutos. Para selar as ampolas sob nitrogênio ou argônio, primeiro transferiu-se para elas o material de recheio, fez-se vácuo e agitou-se. Feito isto deixou-se entrar na ampola nitrogênio ou argônio, através da torneira em "T". Estas etapas foram repetidas mais duas vezes e fechou-as sob nitrogênio ou argônio com maçarico. Nas selagens em condições ambiente, as ampolas, contendo o material de recheio, foram seladas utilizando-se um maçarico.

III.4.2. Irradiação das Ampolas com as FE Preparadas

As ampolas, contendo os materiais de recheio preparados, foram irradiadas em uma fonte de cobalto-60. Na tabela III.2 encontram-se as doses e os ambientes de selagem em que foram irradiados os materiais de recheio contendo 50% de FEL.

Tabela III.2. Doses e ambientes de selagem do material de recheio contendo 50% de PMODS

ambiente de selagem	doses de radiação gama (kGy)								
	20	40	60	70	80	90	100	150	200
condições ambiente	20	40	60	70	80	90	100	150	200
nitrogênio	-	40	60	-	-	-	100	150	-
vácuo	-	40	-	-	-	-	100	-	-
argônio	-	-	60	-	-	-	-	-	-

III.5. Avaliação das Fases Estacionárias Preparadas

III.5.1. Testes Físicos com o Material de Recheio

III.5.1.1. Espectroscopia no Infra-vermelho

Foram preparadas pastilhas de KBr, mantendo-se constante as massas de sílica contida no material de recheio e KBr, 0,25 e 100 mg, respectivamente, e variou-se a massa de FEL segundo a sua porcentagem. Assim, para os materiais com 20, 30, 40, 50 e 60% de PMODS utilizaram-se 0,31; 0,36; 0,42; 0,50 e 0,63 mg de material de recheio. O intervalo no qual os espectros foram obtidos variou entre 4000 a 500 cm^{-1} .

Foram analisados materiais não irradiados e irradiados, antes e depois da extração por solventes, para que se pudesse verificar a existência ou não da FEL por meio da presença de certos grupos funcionais característicos destas fases.

III.5.1.2. Medida de Área Superficial Específica (S_{BET})

As áreas superficiais foram medidas pelo método BET (Brunauer, Emmett e Teller), que se baseia na determinação do volume de nitrogênio adsorvido a diversas pressões, na temperatura do nitrogênio líquido⁶⁷. Mediu-se a área superficial da sílica, da FE comercial e das FE preparadas, irradiadas e não irradiadas.

III.5.1.3. Análise Termogravimétrica (TGA)

Alguns materiais de recheio foram submetidos a análise

termogravimétrica a fim de verificar a estabilidade térmica dos mesmos antes e depois da irradiação em diferentes doses. Através das massas pesadas em uma microbalança de um analisador térmico, calculou-se a porcentagem de perda de massa da amostra com o aumento da temperatura. A análise foi realizada sob atmosfera de argônio, com velocidade de aquecimento constante ($10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$) variando-se a temperatura de 25 a 950°C .

III.5.1.4. Microscopia Eletrônica de Varredura

A análise por microscopia eletrônica de varredura foi feita com o objetivo de verificar o aspecto das partículas do suporte cromatográfico utilizado, bem como das partículas da fase comercial e dos materiais de recheio não irradiado e irradiado a 60 kGy.

III.5.2. Testes Químicos com o Material de Recheio

III.5.2.1. Análise Elementar

Os materiais de recheio irradiados e não irradiados, sílica e fase comercial, foram submetidos a análise elementar para determinar o teor total de carbono. O método utiliza combustão para converter o carbono em CO_2 , que é então medido em função de sua condutividade térmica.

III.5.2.2. Extração por Solventes

Este teste químico foi empregado com a finalidade de

determinar a quantidade de FEL que poderia ser extraída do suporte antes e após a radiação gama.

A extração dos materiais não irradiados e irradiados foi feita pelo método de Sanchez et al⁵⁶ com algumas modificações. Pesaram-se cerca de 0.3 g (com precisão de 0.1 mg) de material de recheio em um pesa-filtro de 30 mL. Deixou-se o material secar em estufa até peso constante. Com o auxílio de um extrator Soxhlet de 500 mL (fig.III.2), fez-se a extração com metanol por seis horas. Após a extração deixou-se o solvente contido no material extraído evaporar em uma capela e a seguir secou o material em estufa a 100 °C, até peso constante. Repetiu-se, então, o mesmo processo com mais dois solventes de polaridades distintas, benzeno e n-pentano, respectivamente.

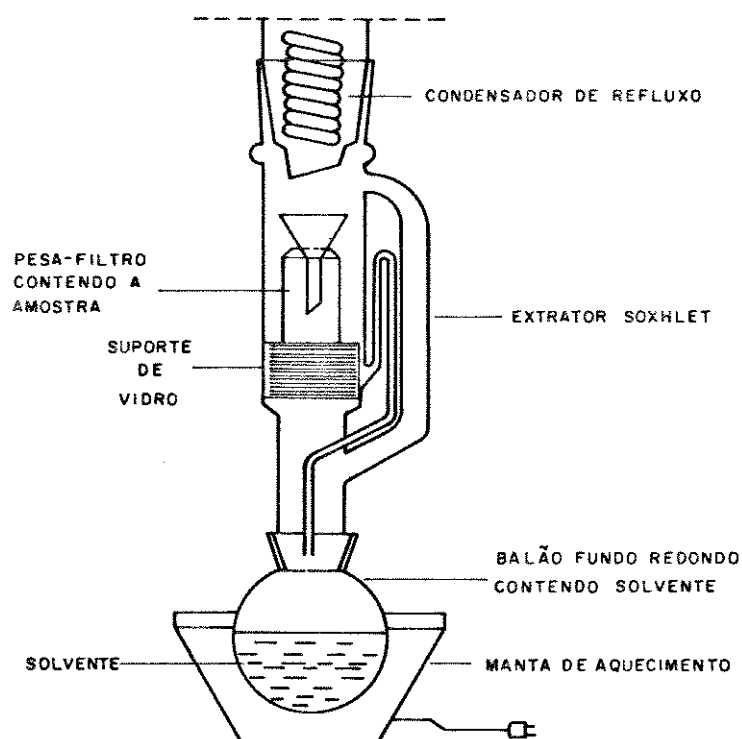


Fig. III.2 Esquema da Aparelhagem utilizada para extração

III.5.3. Testes Cromatográficos

III.5.3.1. Enchimento das Colunas

III.5.3.1.1. Seleção da Concentração da Suspensão

Fez-se um estudo da concentração da suspensão de tetracloreto de carbono (CCl_4), 10% e 20% (m/v), a fim de determinar a concentração mais adequada para o enchimento de colunas. Para isto usou-se o material de recheio 50% PMODS/material de recheio sem irradiação.

III.5.3.1.2. Procedimento de Enchimento das Colunas

Antes de iniciar o enchimento, pesaram-se aproximadamente 1,7 g (com precisão de $\pm 0,1$ mg) de material de recheio e transferiu-o para um tubo de vidro pirex com rosca. Adicionou-se o solvente de suspensão (CCl_4) e submeteu-se a agitação lenta por 12 horas, em um agitador "roto-torque".

O enchimento das colunas foi feito com auxílio de uma bomba de alta pressão e utilizando-se como solvente propulsor o metanol. A pressão adotada para o enchimento foi cerca de 34,45 MPa (5000 psi).

O sistema montado na figura III.3 foi utilizado para encher as colunas. Ele consiste praticamente de duas partes:

- Parte A: coluna, reservatório de suspensão e reservatório de solvente de suspensão.
- Parte B: bomba de enchimento, Haskel.

É importante verificar se o sistema apresenta vazamentos ou bolhas de ar, pois isto pode ocasionar perda de FE durante o enchimento, além de não resultar em um leito homogêneo, devido a presença de ar provocada pelas bolhas. Assim sendo, antes de iniciar o enchimento, montou-se o reservatório de CCl_4 e o de suspensão acoplado à coluna com filtro, conforme mostrado na figura III.4. O reservatório de CCl_4 foi conectado a bomba e a seguir o metanol, que já se encontrava filtrado e desgaseificado foi colocado no reservatório de

solvente. Mantendo-se a válvula de solvente fechada, acionou-se a válvula de controle de pressão do gás até o valor desejado para o enchimento. Ligou-se a bomba deixando as válvulas do solvente propulsor e de controle de pressão abertas para verificar os possíveis vazamentos e eliminar as possíveis bolhas de ar existentes no sistema. Desligou-se a bomba, desconectou-se os reservatórios e lavou-os com CCl_4 .

Para efetuar o enchimento, montou-se novamente o sistema, preenchendo o reservatório do solvente de suspensão com CCl_4 . Colocou-se a suspensão no reservatório apropriado e fechou-o em seguida. Ligou-se a bomba de enchimento, abriu-se a válvula de gás nitrogênio e a de solvente propulsor e deixou-se passar 80 mL de solvente propulsor (metanol). Fechou-se as duas válvulas, esperou-se o metanol parar de gotejar e abriu-se novamente as duas válvulas por 20 segundos. Isto foi repetido mais duas vezes. Esta etapa teve a finalidade de contribuir para um melhor assentamento da FE. Deixou-se a coluna em repouso por 20 minutos, para despressurização do sistema. Desconectou-se a extremidade da coluna do reservatório e nesta colocou-se um filtro e um terminal e em seguida vedou-se as extremidades da coluna.

III.5.3.2. Estudo do Aspecto das Partículas do Material de Recheio

A FE preparada apresentou grande heterogeneidade quanto ao tamanho das partículas, isto é, a FE não estava pulverizada e sim sob a forma de partículas aglomeradas, que permaneceram da mesma forma após a irradiação.

No intuito de homogeneizar e uniformizar as partículas do material de recheio preparado estudaram-se dois métodos de secagem da FE e fizeram-se extrações ou submeteu-se a lavagem com metanol algumas fases irradiadas.

III.5.3.2.1. Estudo do Método de Secagem da FE Preparada

Prepararam-se aproximadamente 5 g de material de recheio segundo procedimento descrito no item III.3, porém secou-se parte do

material em placa de Petri como no item referido e outra parte em um rotoevaporador a uma temperatura aproximada de 30 °C. A seguir selaram-se as respectivas fases em ampolas de vidro, sob condições ambiente, e irradiou-as a 60 kGy sob condições ambiente para posterior enchimento de colunas e análise cromatográfica.

III.5.3.2.2. Tratamento após Irradiação das FE Estacionárias Preparadas

Devido ao fato que as FE irradiadas continuaram apresentando-se como aglomerados, que em doses mais elevadas não se desfaziam durante o processo de homogeneização da suspensão com CCl_4 , que precedia o enchimento das colunas, submeteram-se algumas fases ao ultrassom ou a extração ou a lavagem com metanol.

As FE preparadas e irradiadas a 60 e 150 kGy sob condições ambiente e nitrogênio, foram extraídas com solvente conforme procedimento descrito no item III.5.2.2. Depois de secas foram feitos os enchimentos das mesmas para posterior análise cromatográfica.

As FE irradiadas a 60 kGy selada sob condições ambiente e nitrogênio, bem como a FE irradiada a 80 kGy selada em condições ambiente, foram lavadas com metanol durante 12 h a uma vazão de 0,2 mL.min⁻¹ e deixou-as secar em estufa a temperatura aproximada de 80 °C por 4h. Em seguida fizeram-se os enchimentos das mesmas a fim de analisá-las segundo seus parâmetros cromatográficos.

III.5.3.3. Estudo da Proporção da Fase Móvel

As características de um solvente para CLAE, incluem alta pureza, solubilização da amostra, imiscibilidade com a FE, ausência de reatividade com a FE, baixa viscosidade e preferivelmente baixo custo e toxidez^{13, 31}.

Sabendo-se que a FE é apolar, pois trata-se de cromatografia por fase reversa, selecionou-se uma FM mais polar. Os solventes disponíveis comercialmente e mais utilizados são: acetronitrila, tetraidrofurano e metanol.

O metanol apresenta menor toxidez e seu custo é menos

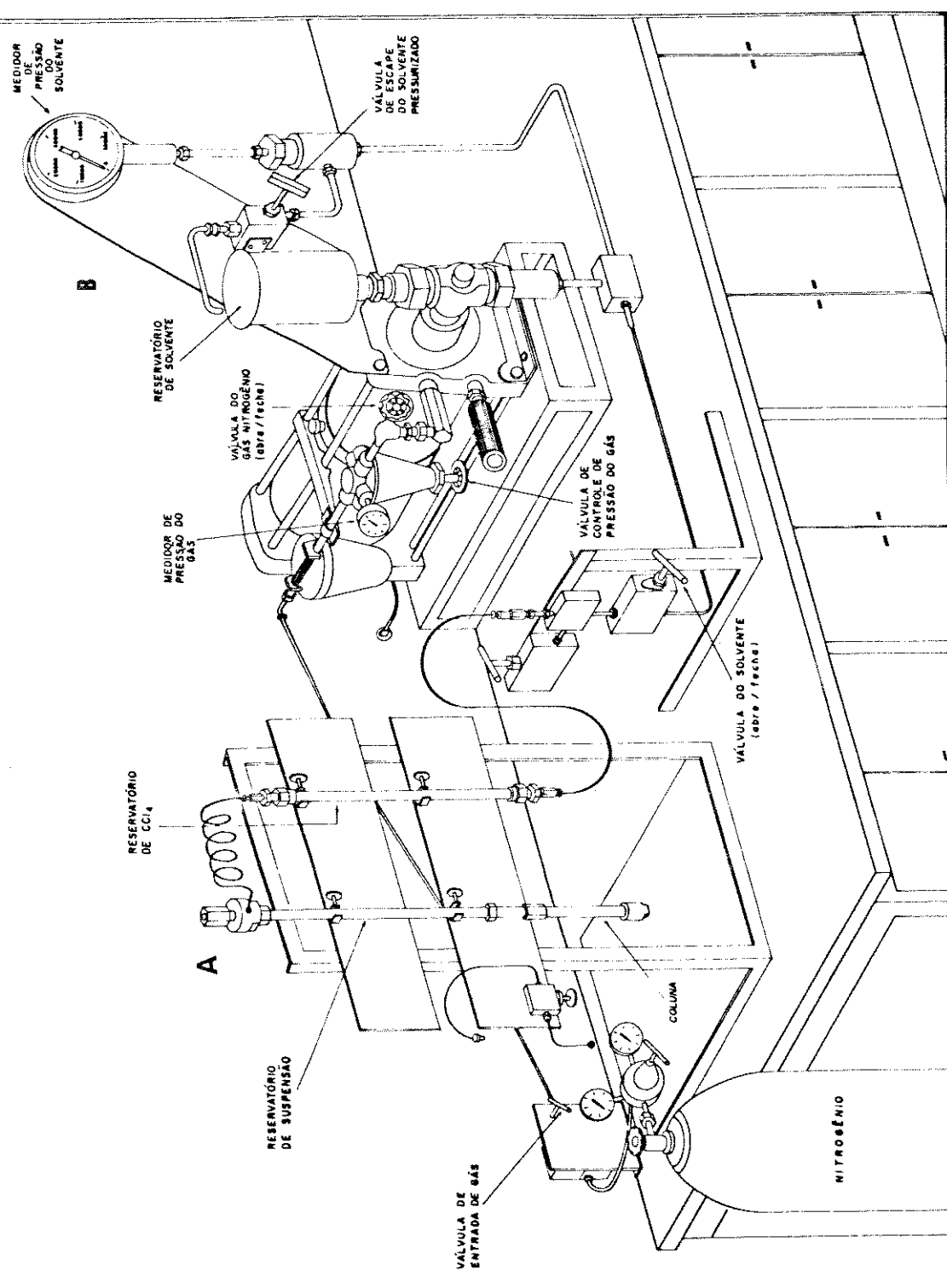


Fig. III.3 Esquema do sistema de enchimento de colunas cromatográficas:

A) coluna, reservatório de suspensão e reservatório de solvente de suspensão e B) Bomba de enchimento, Haskel.

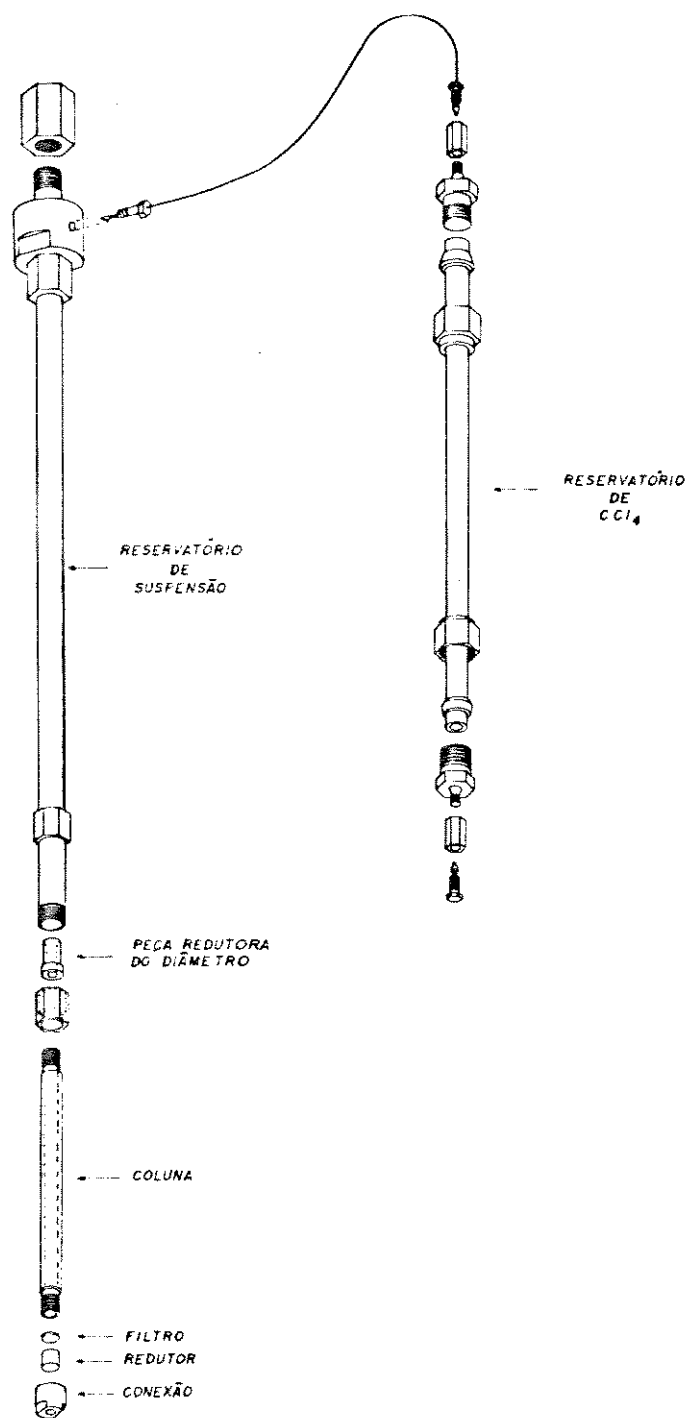


Fig. III.4 Esquema ampliado da coluna, do reservatório de suspensão e do reservatório do solvente de suspensão.

elevado que os demais, portanto este foi o solvente orgânico escolhido para o desenvolvimento deste trabalho.

A FM selecionada foi uma mistura metanol/água e a proporção foi determinada através da avaliação cromatográfica de algumas colunas. A proporção de FM variou de 70:30 a 30:70 (metanol:água, v/v). A FM foi filtrada em um filtro de fibra de vidro GF/D-Whatman, de diâmetro de poros de 2,7 μm e desgaseificada em ultra-som, por aproximadamente 15 minutos a uma frequência de 6 Hz. A vazão da FM foi determinada através das curvas de Van Deemter obtidas para algumas colunas.

III.5.3.4. Condicionamento das Colunas

Antes de utilizar uma coluna para uma avaliação cromatográfica é importante fazer o condicionamento da mesma para que ocorra um equilíbrio perfeito entre as fases móvel e estacionária. Normalmente o tempo de condicionamento varia um pouco de coluna para coluna. Acredita-se que o tempo de duas horas seja suficiente para atingir um equilíbrio perfeito. Porém, é bom saber que o tempo não é crítico para o equilíbrio, mas sim o volume de FM empregado. Entretanto não se deve usar vazões muito altas para reduzir o tempo de condicionamento, pois corre-se o risco de gerar danos irreversíveis à coluna.

É comum deixar a coluna condicionando durante a noite em vazões baixas, quando a rede elétrica possui voltagem estável e existam dispositivos de segurança nos equipamentos. É importante observar que a coluna não esteja acoplada ao detector durante seu condicionamento para evitar que partículas atinjam a cela do detector causando obstruções, com consequente aumento de pressão e ruptura das janelas da cela do detector.

Para as colunas que foram utilizadas durante dias consecutivos, fazia-se um condicionamento de 20 a 30 minutos antes de iniciar a análise.

III.5.3.5. Avaliação Cromatográfica

As colunas foram avaliadas em função de alguns parâmetros cromatográficos, tais como: número de pratos teóricos (n), número de pratos teóricos por metro ($n.m^{-1}$), razão de distribuição de massas (D_m), resolução (R_s), assimetria a 10% (A_s), fator de separação (α) e tempo de retenção (t_R). Para isto utilizaram-se as seguintes misturas:

- mistura 1: acetona, benzeno, tolueno e naftaleno.
- mistura 2: acetona, benzonitrila, benzeno, tolueno e naftaleno.
- mistura 3: anilina, fenol e naftaleno
- mistura 4: acetilacetona, nitronaftaleno e naftaleno.
- mistura 5: anilina, nitronaftaleno e naftaleno.

A mistura 1 e 2 são compostos indicados na literatura⁶⁴ e utilizados em trabalhos anteriores^{2,41} e têm por objetivo avaliar as colunas quanto a sua performance frente a compostos polares e apolares.

A mistura 3 é sugerida por Engelhardt e Junghein¹⁸ e Engelhardt *et al*¹⁹ para avaliar as interações de compostos básicos, ácidos e mais apolares nas colunas, ou seja, investigar a presença de grupos silanóis na superfície da sílica.

A mistura 4, sugerida por Verzele e Dewaele⁶⁸, tem por finalidade avaliar a presença de metais na FE, bem como a atividade de possíveis grupos silanóis presentes na FE.

A mistura 5 servirá para avaliar a retenção de soluto básico, bem como a atividade de grupos silanóis residuais do suporte cromatográfico.

O volume de amostra injetado foi sempre de 5,0 μ L.

As concentrações dos componentes na mistura teste variaram de coluna para coluna, pois não houve preocupação quantitativa e sim um interesse em obter altura de picos de forma a ocupar 50% ou mais da escala total do papel. As misturas foram dissolvidas em metanol.

As análises foram feitas em duplicata com o comprimento de onda do detector em 254 nm. Os cromatogramas foram obtidos a uma vazão de 0,2 mL.min⁻¹ e a velocidade do papel 0,5 cm.min⁻¹.

Os cromatogramas utilizados para efetuar os cálculos dos parâmetros cromatográficos foram obtidos em velocidades de papel maiores a fim de diminuir os erros inerentes ao processo. As tabelas de todos os parâmetros cromatográficos obtidos e calculados para as diversas colunas encontram-se no apêndice A com suas respectivas estimativas de desvio padrão.

III.5.3.6. Lavagem da Coluna com Fase Móvel

Para verificar a estabilidade da FE frente a solventes e a pressões mais elevadas ($F = 0,5$ a $2,5 \text{ mL.min}^{-1}$), a coluna com material de recheio irradiado a 70 kGy foi submetida a lavagem com a FM e a variação de vazão.

O método descrito por Ohmacht et al⁵⁰, com algumas alterações, serviu de base para lavagem do material de recheio contido na coluna cromatográfica. Utilizaram-se as misturas 2 e 5 antes e após cada passagem de volume determinado de FM. A FM utilizada foi metanol:água (50:50). Os parâmetros cromatográficos, n , α , D_m e A_s foram medidos quando completados os volumes correspondentes a 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 e 3500 vezes o volume da coluna (1,42 mL). Iniciou-se o teste com uma vazão de $0,5 \text{ mL.min}^{-1}$ e alterou-a para $2,5 \text{ mL.min}^{-1}$ com o volume de FM correspondente a 500 vezes o volume da coluna e continuou alternando a vazão até completar 3500 vezes o volume da coluna.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÕES

IV.1. Escolha da Quantidade Ideal de FEL sobre Suporte

IV.1.1. Preparação dos Materiais de Recheio

Existem na literatura algumas maneiras de preparar fases estacionárias. Schomburg *et al*^{32,62} e George²⁷, por exemplo, sugerem o uso de ultrassom na preparação de fases. Acredita-se no entanto, que o ultrassom possa quebrar as cadeias do polímero (FEL), fazendo com que não se tenha mais ligado à sílica uma cadeia C-18, mas sim fragmentos desta cadeia. Desta forma, optou-se por um procedimento, conhecido como método de evaporação⁵, onde a agitação é lenta, propiciando menores possibilidades de quebra das partículas e o tempo de agitação proporciona um maior contato da FEL com o suporte.

Uma das vantagens de se usar o método de evaporação na preparação de fases é quanto a simplicidade do método e também quanto ao tempo gasto no preparo, que é pequeno. Esta é uma vantagem significativa frente as fases quimicamente ligadas preparadas por reações com longos períodos sob refluxo.

Utilizando este método de preparação a princípio, a FEL está mecanicamente adsorvida sobre o suporte⁵⁷, porém após a irradiação espera-se que haja formação de ligação química com o suporte, bem como o entrecruzamento da FEL⁴⁴.

Como não se conhecia a quantidade mais adequada de FEL para recobrir a sílica, fez-se um estudo neste sentido, analisando-se alguns parâmetros cromatográficos, além de medidas químicas e físicas, que serão discutidas nos próximos itens. A tabela IV.1 mostra os resultados obtidos neste estudo.

Tabela IV.1 Parâmetros obtidos na escolha da porcentagem de FEL sobre sílica gel (10 μm e 6nm)

PARÂMETROS \ %FEL/SÍLICA (%)	20	30	40	50	60
n/m^* (m^{-1})	-	11661	11457	12842	-
D_m^*	2,99	6,32	5,93	7,37	-
A_s^*	-	0,76	0,81	0,70	-
S_{BET} ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	211,15	100,44	18,21	2,29	0,78
% C	6,48	15,36	24,78	38,72	42,34
% extraída	5,82	18,28	25,04	27,69	-

* parâmetros obtidos para o naftaleno, mistura 1, FM: (30:70 MeOH:H₂O), F=0,4 mL.min⁻¹ e P=0 MPa

IV.1.2. Testes Químicos com os Materiais de Recheio Preparados

IV.1.2.1. Extração por Solventes

Os resultados da extração por solvente, tabela IV.1, (%extraída) mostram que quanto maior a quantidade de FEL utilizada no material de recheio maior a quantidade de FEL extraída, isto pode indicar que após a irradiação a imobilização será maior.

Acredita-se que com uma maior quantidade de FEL há uma maior saturação dos poros da sílica e formação de uma camada de FEL em sua superfície, que blindaria os grupos silanóis residuais, diminuindo os centros ativos do suporte, o que é desejável para uma fase do tipo reversa. Desta forma, o material de recheio contendo 50% de FEL no qual restou 22,31% de FEL após a extração, seria o mais indicado para preparar fases estacionárias para serem irradiadas.

IV.1.2.2. Análise Elementar (% C)

O teor de carbono nos materiais de recheio podem dar indício se está ocorrendo uma boa cobertura da superfície da sílica. Schomburg *et al*⁶² consideram que em medidas realizadas por microscopia eletrônica, que mede a quantidade de carbono na superfície do material, o conteúdo de carbono acima de 32 % é indicação de uma boa cobertura, enquanto que este valor para análise elementar, que faz determinação da porcentagem global do teor de carbono é cerca de 20 %. Assim, considerando este aspecto e tendo em vista os resultados contidos na tabela IV.1, verifica-se que os materiais de recheio com 40, 50 e 60% de FEL estariam promovendo uma boa cobertura da superfície do suporte.

Na literatura^{1,33,43} é comum associar o teor de carbono das fases estacionárias com a razão de distribuição de massas (D_m). A figura IV.1 mostra um gráfico de D_m em função da porcentagem de carbono.

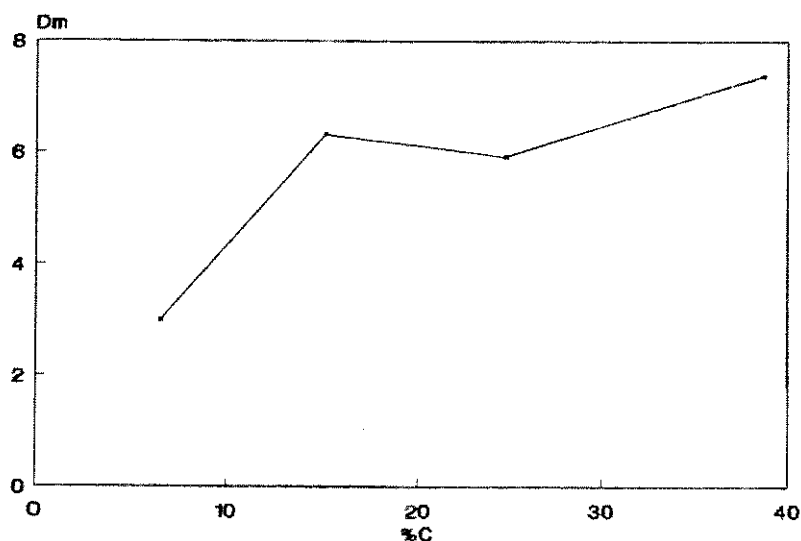


Fig.IV.1. Variação de D_m em função da porcentagem de carbono das FE

Observando-se o gráfico nota-se que a variação de D_m não é linear, isto também foi verificado por MacLennan⁴³. Entre os dados contidos na tabela IV.1 o maior valor de D_m foi conseguido para o material de recheio com 50% de FEL.

IV.1.3. Testes Físicos com os Materiais de Recheio Preparados

IV.1.3.1. Medidas de Área Superficial Específica (S_{BET})

Analisando-se os dados da tabela IV.1 para S_{BET} , verifica-se que ocorreu uma diminuição na área superficial específica conforme foi-se aumentando a quantidade de FEL sobre a sílica, até 50%, quando então, a área permaneceu praticamente constante. Esta diminuição pode ser explicada pelo recobrimento dos poros da sílica gel pelo PMODS, dificultando a adsorção de nitrogênio pela mesma, implicando diretamente na diminuição da área da sílica. Assim, observa-se que com 50 e 60% de FEL nos materiais de recheio tem-se uma camada de FEL recobrindo quase que totalmente a superfície da sílica. A figura IV.2 mostra um gráfico onde se relaciona a medida de área superficial específica com a porcentagem de FEL presente nos materiais de recheio.

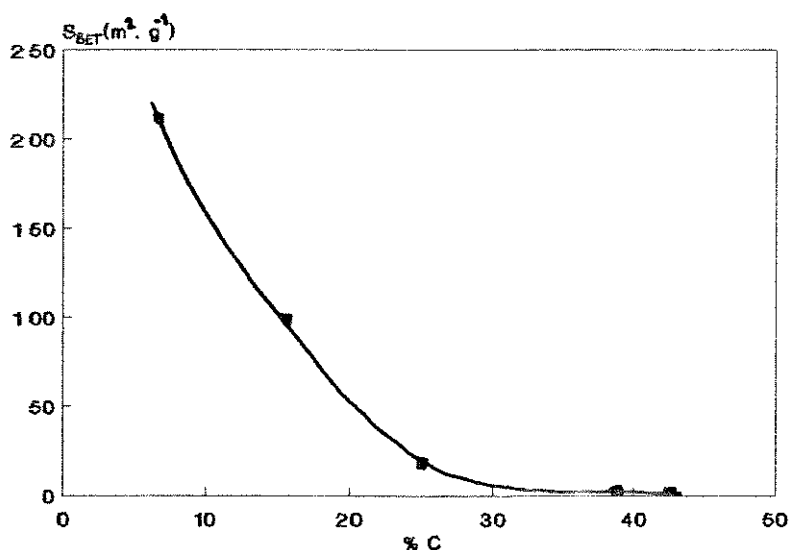


Fig. IV.2. Variação da área superficial específica com o teor de carbono contido no material de recheio

Geralmente a área superficial diminui com o aumento da porcentagem de carbono. A figura IV.2 confirma a provável modificação da superfície através do recobrimento dos poros. Um gráfico semelhante relacionando essas duas variáveis foi obtido por Akapo *et al*¹ para cadeias poliméricas com oito carbonos. O efeito da modificação da superfície sobre a área superficial específica tornou-se mínimo quando 50% FEL recobriu o suporte, indicando que deve ter formado uma camada de FEL que blindaria os grupos silanóis. Com 60% de FEL, possivelmente ocorreu apenas um aumento na espessura da camada de recobrimento, o que pode ser indesejável cromatograficamente.

IV.1.3.2. Espectroscopia no Infra-Vermelho

Os espectros obtidos para a sílica, FEL e materiais de recheio encontram-se na figura IV.3.

O espectro de infra-vermelho da FEL, PMODS, figura IV.3.A, apresentou como principais bandas um duplete em 2850,0 e 2918,8 cm^{-1} , característico dos grupos metilas, uma banda forte em 1467,4 cm^{-1} característica da deformação de C-H, uma banda forte em 1258,4 cm^{-1} característica da ligação $\equiv\text{Si-O-}$ e um duplete em 1098,2 - 1016,8 cm^{-1} dos grupos siloxanos⁵².

O suporte de sílica, figura IV.3.B, apresentou uma banda larga em 3483,9 cm^{-1} , que pode ser proveniente das vibrações de grupos hidroxilas ligados por pontes de hidrogênio, uma banda fraca em 1654,1 cm^{-1} da deformação vibracional da água molecular a qual é adsorvida via ponte de hidrogênio por grupos $\equiv\text{Si-OH}$ terminais⁷², uma banda forte alargada em 1096,9 cm^{-1} correspondente aos grupos siloxanos ($\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$)⁵², um ombro em 972,2 cm^{-1} de grupos silanóis livres⁷² e uma banda fraca em 796,1 cm^{-1} de grupos silanóis⁵².

Os espectros dos materiais de recheio preparados, figuras IV.3.C-H, apresentaram uma banda larga na região de 3500 cm^{-1} , característica dos grupos hidroxilas do suporte, um duplete na região de 2900 cm^{-1} dos grupos metilas da FEL, uma banda forte na região entre 1100-1090 cm^{-1} dos grupos siloxanos, constituintes de ambos suporte e FEL, um ombro na região de 970 cm^{-1} , característico de grupos silanóis livres e uma banda fraca na região de 800 cm^{-1} de

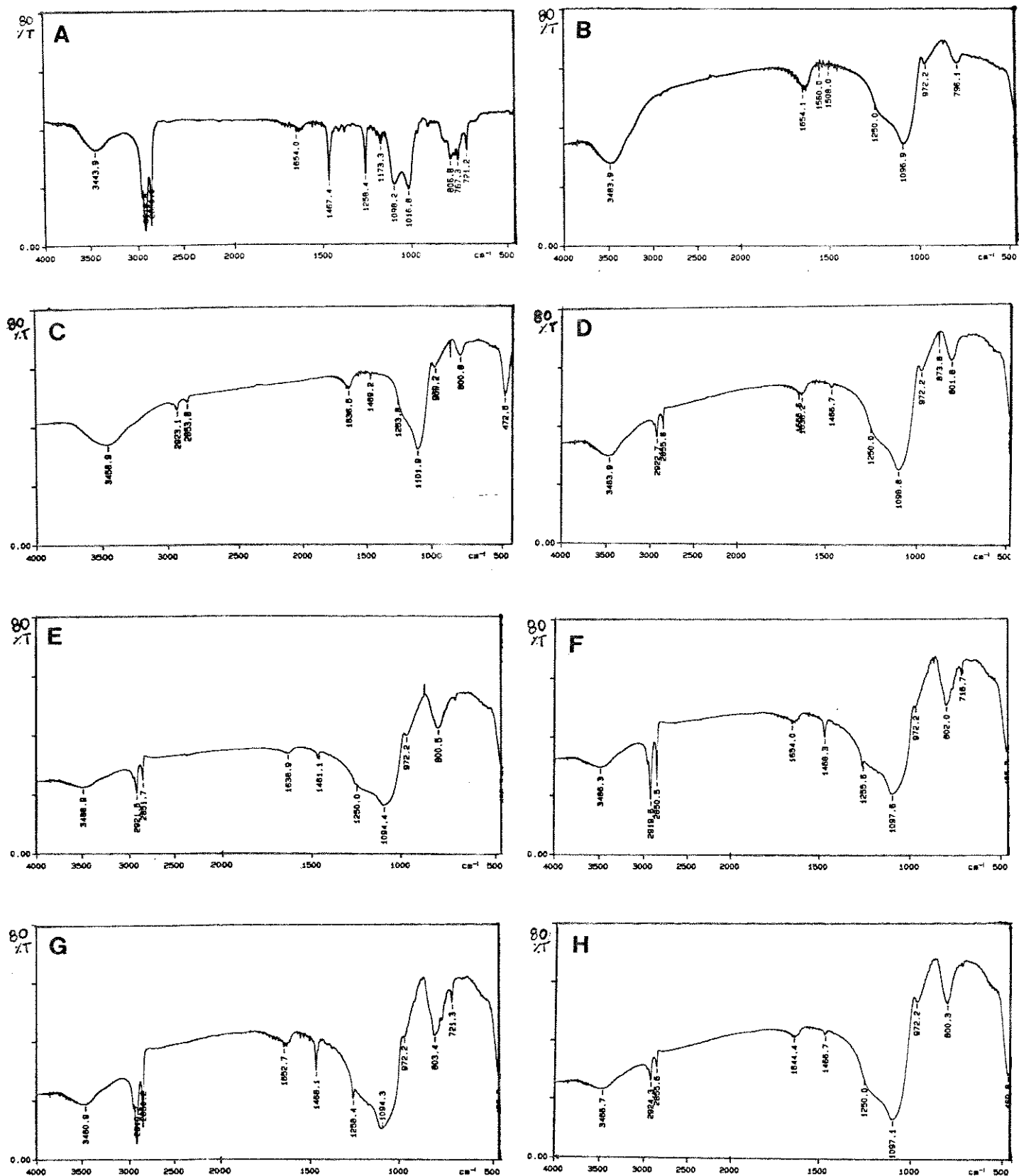


Fig.IV.3 Espectros de infra-vermelho: (A) PMDS; (B) SÍLICA; (C) 20% FEL/SUP.; (D) 30% FEL/SUP.; (E) 40% FEL/SUP.; (F) 50% FEL/SUP.; (G) 60% FEL/SUP.; (H) 50% FEL/SUP. extraída.

grupos silanóis. A análise destes espectros mostra a presença da FEL nos materiais de recheio preparados e como não houve nenhum tratamento que resultasse em ligação química, ela encontra-se adsorvida sobre o suporte.

Os espectros para os materiais foram obtidos mantendo-se a massa de sílica constante. Isto foi feito para que se pudesse observar a variação da intensidade da banda na região de 970 cm^{-1} , que corresponde aos grupos silanóis livres. De fato observou-se que a partir de 40% de FEL sobre suporte começou a haver um provável recobrimento da sílica, pois conforme aumentou-se a quantidade de FEL houve uma diminuição na intensidade desta banda. Assim, os materiais de recheio com 50 e 60% de FEL recobrem mais a superfície do suporte que as demais quantidades de FEL (20, 30 e 40%).

Comparando-se os espectros IV.3.G e IV.3.H observa-se que após a extração, a intensidade da banda 970 cm^{-1} aumentou ligeiramente. Isto significa que a extração retirou parcialmente a camada de FEL que recobria a superfície da sílica, pois como observado no espectro IV.3.H, ainda existem bandas características da FEL, porém com menores intensidades.

IV.1.4. Testes Cromatográficos com os Materiais de Recheio Preparados

Nesta primeira etapa preocupou-se em obter uma boa separação para os componentes da mistura 1 proposta, por isso calculou-se apenas os parâmetros cromatográficos para a FE onde houve separação total dos picos. Os parâmetros estudados nesta etapa foram: número de pratos teóricos por metro (n/m), fator de assimetria a 10% (A_s) e razão de distribuição de massas (D_m) e eles encontram-se na tabela IV.1.

Observando-se a tabela IV.1 verifica-se que a maior eficiência, calculada para o naftaleno, foi obtida para coluna com 50% de FEL no material de recheio. A eficiência diz quantos equilíbrios (pratos) os componentes tiveram que enfrentar durante o percurso através da coluna. Assim, uma coluna terá maior eficiência quanto maior o número de equilíbrios dos componentes com a FM e com a FE. Desta forma, é desejável que as colunas tenham eficiência a mais alta possível.

Os fatores de assimetria não foram tão bons, porém espera-se que com a irradiação este parâmetro melhore.

Os valores de D_m encontram-se dentro das especificações da literatura⁵⁴ obtendo-se maior valor para o material de recheio com 50% de FEL.

A figura IV.4 mostra os cromatogramas obtidos para as fases estacionárias com 20, 30, 40, 50 e 60% de FEL.

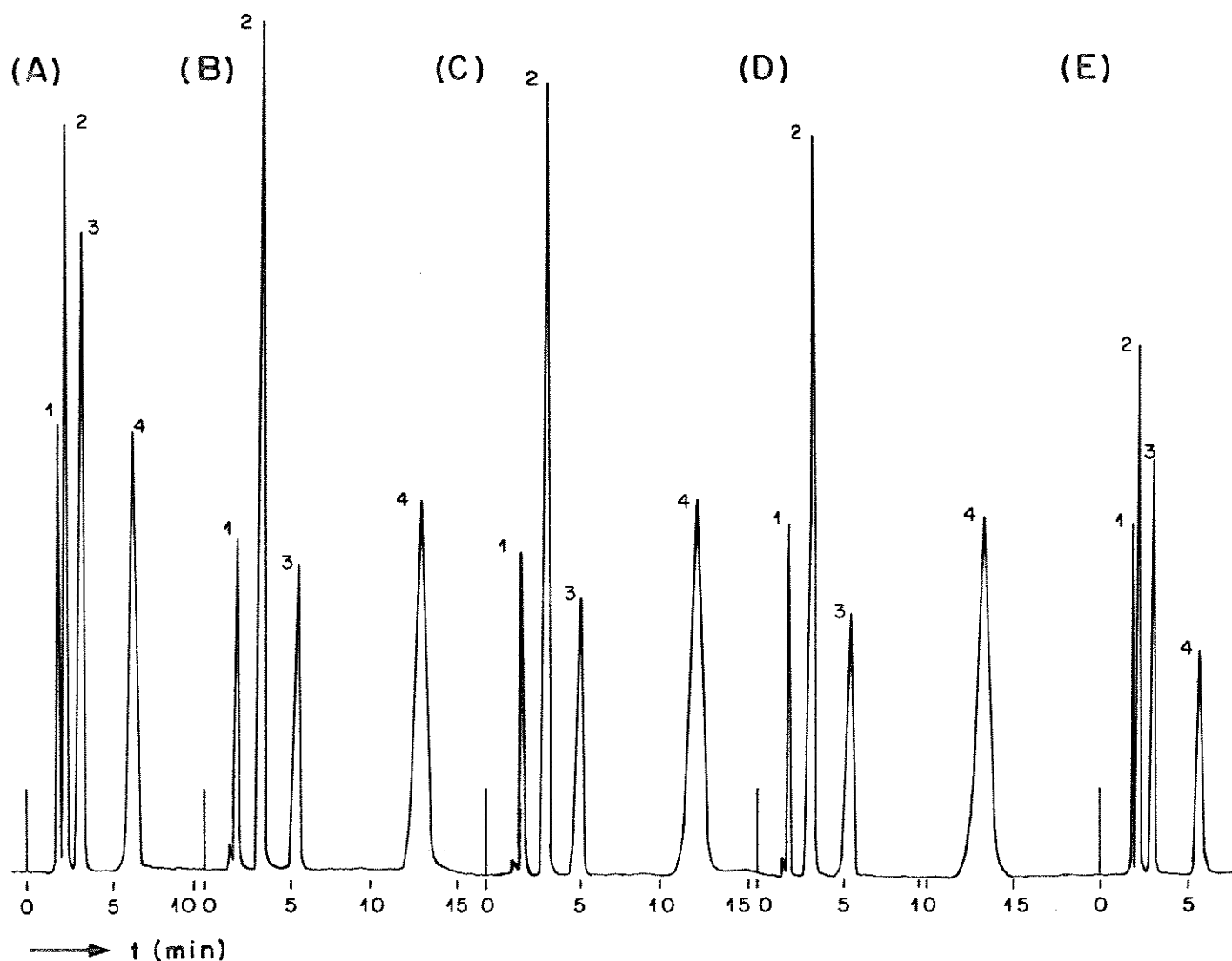


Fig. IV.4. Cromatogramas mostrando a influência da % de FEL nos parâmetros cromatográficos: (A) 20% FEL/SUP.; (B) 30% FEL/SUP.; (C) 40 %FEL/SUP.; (D) 50% FEL/SUP.; (E) 60% FEL/SUP.; MISTURA 1: 1=ACETONA, 2=BENZENO, 3=TOLUENO, 4=NAFTÁLENO; COLUNA: 125X2,9 mm; $F=0,3 \text{ mL.min}^{-1}$; $f=0,25 \text{ cm.min}^{-1}$; FM: (MeOH:H₂O, 30:70); $v_i=5 \mu\text{L}$; $P=0 \text{ Mpa}$; detecção no UV: 254 nm.

Analisando-se os cromatogramas podem-se fazer algumas considerações:

a) Os materiais de recheio com 20 e 60% de FEL não separaram completamente a mistura utilizada. Isto mostra que tanto uma pequena quantidade como um excesso de polímero prejudica a performance cromatográfica da coluna. A primeira por não recobrir totalmente a superfície da sílica e a segunda por possibilitar a existência de um filme de FEL muito espesso.

b) A FE com 30% de FEL forneceu uma boa separação, entretanto pela análise de sua área superficial específica, espectroscopia no infra-vermelho e análise elementar verifica-se que houve apenas um recobrimento parcial do suporte, possibilitando que os grupos silanóis ficassem expostos, o que prejudicaria a análise de compostos básicos, pois estes poderiam ter fortes interações com a FE, propiciando a formação de picos com cauda.

c) A FE com 40% de FEL apresentou em seus testes físicos e químicos valores menos propícios na preparação de fases do que os obtidos para FE com 50%, além de ter apresentado uma eficiência menor.

d) Baseado em todos os dados obtidos até o momento, a FE com 50% de FEL pareceu ser a % de FEL ideal, haja visto que os resultados indicaram ter havido uma boa cobertura da superfície do suporte, além de ter apresentado a maior eficiência e o cromatograma ter mostrado uma boa separação da mistura analisada.

IV.2. Enchimento das Colunas Cromatográficas

IV.2.1. Seleção da Concentração da Suspensão

Para comparar as duas concentrações de suspensão, 10 e 20% (m/v), preparadas com material de recheio contendo 50% de FEL e tetracloreto de carbono, encheram-se duas colunas. Como pode ser observado nos cromatogramas mostrados na figura IV.5, a coluna recheada com a suspensão de 10% apresentou um má resolução entre os dois primeiros picos, enquanto que a coluna recheada com a suspensão

20% apresentou uma boa resolução. Selecionou-se então, a suspensão de 20% (m/v) para os demais enchimentos.

O solvente de suspensão, assim como a proporção deste em relação a massa do material de recheio, para que se obtenha um leito de coluna uniforme deve ser escolhido de modo que a suspensão apresente-se o mais homogênea possível e decante lentamente.

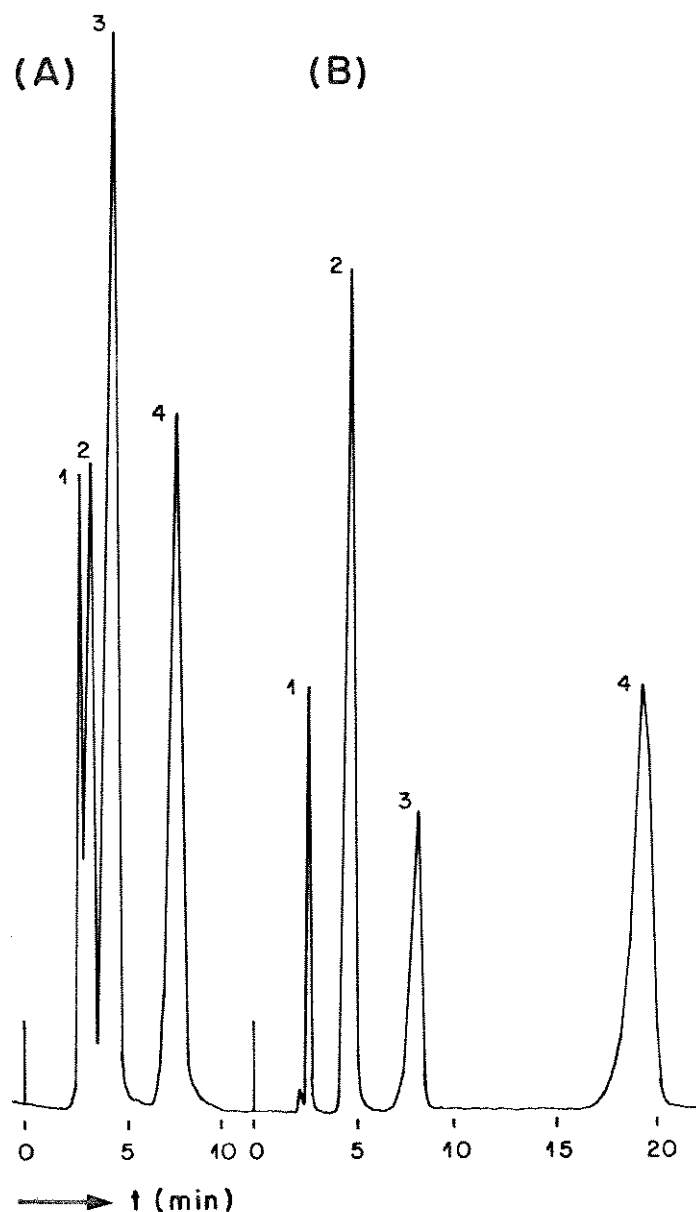


Fig.IV.5. Cromatogramas correspondentes a suspensão de 10 e 20%, respectivamente, figura A e B: FE COM 50% FEL/SUP.; MISTURA 1: 1=ACETONA, 2=BENZENO, 3=TOLUENO E 4=NAFTELENO; FM: (MeOH:H₂O 30:70); F=0,2 mL.min⁻¹; f=0,25 cm.min⁻¹; v_i=5μL; coluna: 125x2,9 mm; P=0 Mpa; detecção UV: 254 nm.

IV.3. Estudo do Aspecto das Partículas do Material de Recheio

IV.3.1. Estudo do Método de Secagem da FE Preparada

Compararam-se dois métodos de secagem do material de recheio preparado com o objetivo de verificar qual deles resultaria em partículas mais uniformes e homogêneas, com conseqüente melhora da performance cromatográfica. O material seco em placa de Petri apresentou-se sob a forma de partículas finas, recobertas com FEL e soltas, enquanto que a secagem em rotoevaporador resultou em uma fase com aspecto de pequenas placas, com uma nítida visualização de uma camada de polímero sobre a sílica, polímero apenas e partículas de sílica.

A tabela IV.2 mostra os resultados cromatográficos obtidos para as colunas recheadas com os materiais preparados e secos através dos dois métodos e irradiados a 60 kGy sob condições ambiente.

Analisando-se os resultados contidos na tabela IV.2, nota-se que o material seco em rotoevaporador apresentou uma eficiência bem menor que o material seco em placa de Petri, isso indica que o método da evaporação a temperatura ambiente resulta em FE com maior eficiência, sendo portanto escolhido.

Tabela IV.2. Comparação entre os métodos de secagem dos materiais de recheio preparados

secagem do material	Parâmetros Cromatográficos *			
	$n/m^{**} (m^{-1})$	D_m^{**}	A_s^{**}	R_s^{***}
Rotoevaporador	15526	4,70	0,69	3,62
Placa de Petri	26486	3,95	0,69	3,77

* mistura 2, FM MeOH:H₂O (50:50), F=0,1 mL.min⁻¹

** para o naftaleno

*** para o par acetona-benzonitrila

IV.3.2. Tratamento após Irradiação das FE Preparadas

O uso do ultrassom, a vários períodos de tempo, com a fase

irradiada a 150 kGy e suspensa em tetracloreto de carbono, não foi suficiente para desagregar os aglomerados e deixar as partículas mais pulverizadas e soltas.

Os resultados obtidos com a extração e lavagem com metanol de fases irradiadas em 60, 80, 100 e 150 kGy, em condições ambiente ou nitrogênio estão na tabela IV.3. A fim de que se pudesse fazer uma melhor comparação destes dados acrescentaram-se os resultados para as respectivas fases sem tratamento.

Tabela IV.3. Tratamento de FE preparadas e irradiadas

DOSE (kGy)	TRATAMENTO	Parâmetros Cromatográficos*			
		n/η^{**} (m^{-1})	D_m^{**}	A_s^{**}	R_s^{***}
60 amb.	s/t	30772	5,46	0,83	5,53
	lavada	20546	9,35	0,80	4,88
	extraída	14856	6,60	0,96	2,81
60 nit.	s/t	30826	5,69	0,84	5,75
	lavada	30461	7,47	1,00	7,14
	extraída	10957	5,97	0,70	2,45
80 amb.	s/t	29233	6,52	0,79	6,14
	lavada	18857	8,79	0,82	6,00
100 amb.	s/t	24618	2,97	0,92	2,82
	extraída	21757	4,02	1,08	3,04
150 amb.	extraída	27189	5,25	0,85	4,56
150 nit.	extraída	31487	5,00	1,06	3,95

* mistura 2, $F=0,1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, FM: MeOH:H₂O (50:50 e 70:30 para as extraídas)

** para o naftaleno

*** para o par acetona-benzonitrila

Pelos dados da tabela IV.3, nota-se que, de um modo geral, a eficiência das colunas diminuiu após os tratamentos. Isso fez com que não fosse feito nenhum tratamento das demais FE preparadas e irradiadas em doses de radiação gama inferiores ou iguais a 100 kGy.

Os únicos casos em que o tratamento foi efetivo, foi nas doses de 150 kGy em condições ambiente e em nitrogênio, que antes do

tratamento não foi possível encher as colunas devido a fase se apresentar sob forma de grandes aglomerados, porém após o tratamento os enchimentos foram feitos e resultaram em colunas com boa performance cromatográfica, inclusive obtendo para a dose de 150 kGy sob atmosfera de nitrogênio uma maior eficiência que a conseguida para a melhor dose de 60 kGy sob condições ambiente que foi de 30772 pratos teóricos por metro. Acredita-se que a extração para doses mais altas seja favorável a homogeneização da FE. George²⁷, por exemplo, extraía suas FE irradiadas a altas doses, antes do enchimento das colunas com as mesmas.

IV.4. Estudo da Fase Móvel

IV.4.1. Escolha da Proporção dos Solventes da FM

Fez-se um estudo da melhor proporção de FM, pois a normalmente utilizada em trabalhos anteriores^{2, 41} (metanol:água 70:30, v/v) para o tipo de FE desenvolvida neste trabalho, não separou os componentes da mistura padrão. Usou-se para este teste a coluna com material de recheio com 30% de FEL e baseado nos resultados obtidos estabeleceu-se a melhor proporção de FM a ser utilizada no desenvolvimento desta pesquisa.

Analisando-se os dados obtidos na tabela IV.4 pode-se notar que a FM na proporção 30:70 (metanol:água) possibilitou a melhora de todos os parâmetros cromatográficos, num bom tempo de análise. Nas proporções 70:30 e 60:40 não foi possível medir todos os parâmetros por não ter havido separação suficiente entre os picos, como é mostrado nos cromatogramas da figura IV.6. Estabeleceu-se então, que a proporção da FM seria 30:70 para a verificação da melhor porcentagem de FEL sobre suporte.

Também foi necessário fazer um estudo da melhor proporção de FM para as amostras após a irradiação, pois conforme os dados mostrados na tabela IV.5, o tempo de análise utilizando-se a proporção 30:70 metanol:água, v/v, foi muito longo. Mediu-se os parâmetros cromatográficos para uma coluna com material de recheio irradiado a 40 kGy sob nitrogênio.

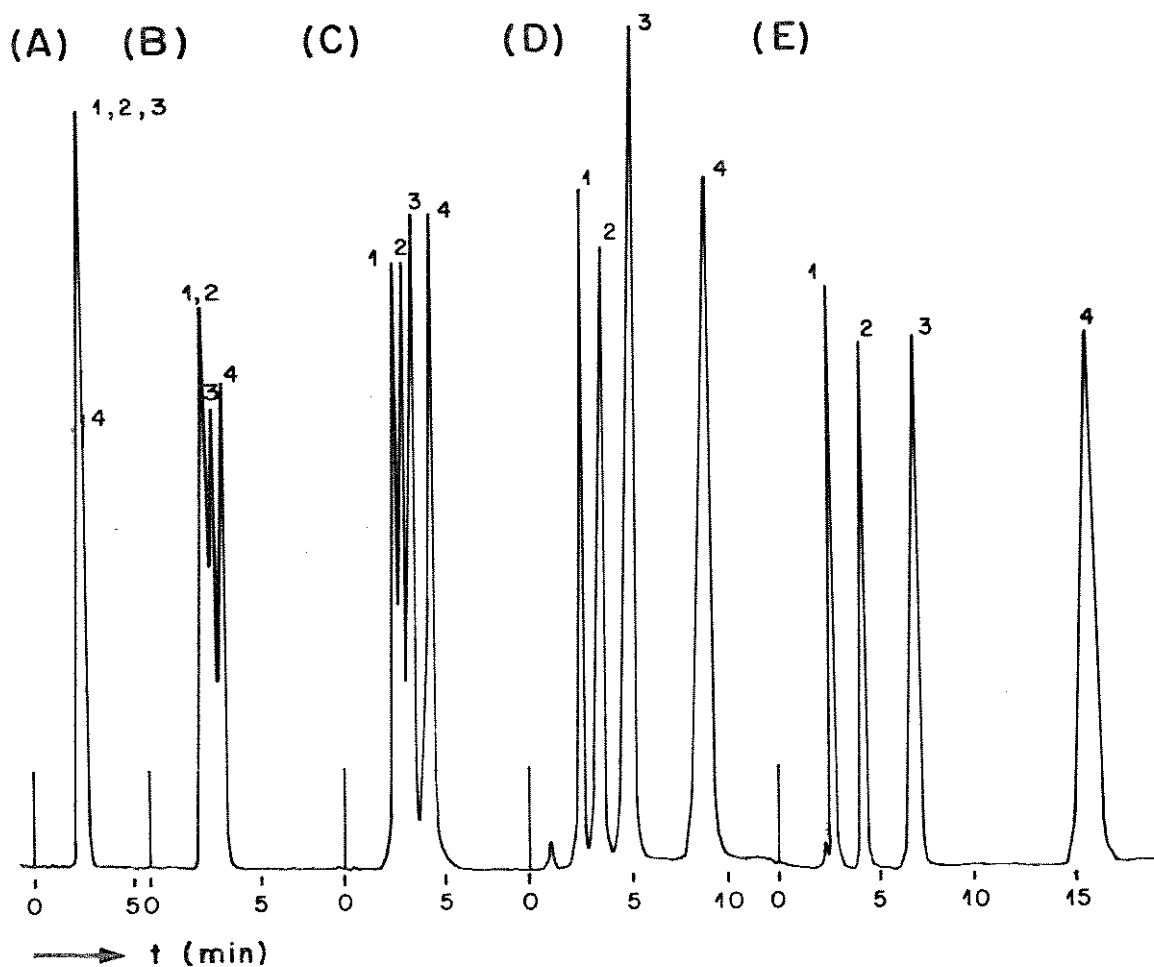


Fig. IV.6. Cromatogramas obtidos no estudo da proporção da FM.
MISTURA 1: 1=ACETONA, 2=BENZENO, 3=TOLUENO E 4=NAFTALENO;
 $F=0,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $f=0,25 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$; FE: 30%FEL/SUP.; $v_i=5\mu\text{L}$;
FM:MeOH:H₂O: A) FM:70:30; B) FM:60:40; C) FM:50:50;
D) FM:40:60; E) FM:30:70; P=0 MPa; detecção UV: 254 nm

Tabela IV.4. Influência nos parâmetros cromatográficos da proporção de solventes MeOH:H₂O que compõe a FM

Proporção de FM (MeOH:H ₂ O) (v/v)	t _R [*] (min)	n/η [*] (m ⁻¹)	A _s [*]	D _m [*]	R _s ^{**}
70:30	4,23	-	-	0,34	-
60:40	5,24	7870	-	0,67	-
50:50	7,00	8695	0,56	0,98	1,09
40:60	14,09	10747	0,70	2,85	2,79
30:70	25,55	17157	0,80	5,55	5,09

* para o naftaleno

** para o par acetona-benzeno

parâmetros medidos utilizando-se a mistura 1 e F=0,2 mL.min⁻¹

Tabela IV.5. Estudo da proporção de FM para coluna irradiada a 40 kGy em atmosfera de nitrogênio

Proporção de FM (MeOH:H ₂ O) (v/v)	t _R [*] (min)	n/η [*] (m ⁻¹)	D _m [*]	A _s [*]	R _s ^{**}
30:70	145,95	24190	13,65	0,61	7,64
40:60	74,12	25356	6,25	0,63	5,02
50:50	34,02	24759	2,43	1,05	2,28
60:40	21,05	23736	1,16	1,07	0,79

* para o naftaleno

** para o par acetona-benzonitrila

parâmetros medidos a uma vazão de 0,1 mL.min⁻¹ com a mistura 2

Observando-se os dados da tabela IV.5 nota-se que na proporção 50:50 metanol:água, há uma melhora significativa na assimetria, sendo que D_m e R_s encontram-se dentro das especificações da literatura⁵⁴. A eficiência pode ser considerada boa e o tempo de

análise razoável. Apesar da proporção 60:40 ter apresentado um bom tempo de análise existe uma queda na eficiência, bem como em D_m e R_s , sendo estes últimos fora dos limites aceitáveis na literatura ($2 < D_m < 10$ e $R_s > 1,5$)⁵⁴, principalmente no que diz respeito a resolução que mostra uma má separação dos picos. Assim sendo, a proporção escolhida foi a de 50:50 metanol:água.

Alguns autores^{37, 38, 48, 71} propõem um estudo da razão de distribuição de massas em função da porcentagem de metanol na FM para verificar a retentividade das colunas. A figura IV.7 mostra o gráfico obtido para diferentes componentes de uma mistura sintética para as colunas recheadas com material de recheio com 30% de FEL e com material de recheio irradiado a 40 kGy sob atmosfera de nitrogênio.

As curvas obtidas mostram que o D_m , principalmente do naftaleno, que é o soluto mais retido, diminui com o aumento da porcentagem de metanol na FM. Para solutos polares, como a acetona, que é menos retida, o D_m permaneceu praticamente constante à medida que a porcentagem de metanol aumentou. Isto está em concordância com a teoria da CLAE que prevê que quanto maior a polaridade da FM menor a razão de distribuição de massas. O C-18, sendo uma FR, a polaridade da FM aumenta com o aumento da porcentagem do solvente mais apolar, no caso metanol, diminuindo o D_m , sobretudo de compostos mais retidos.

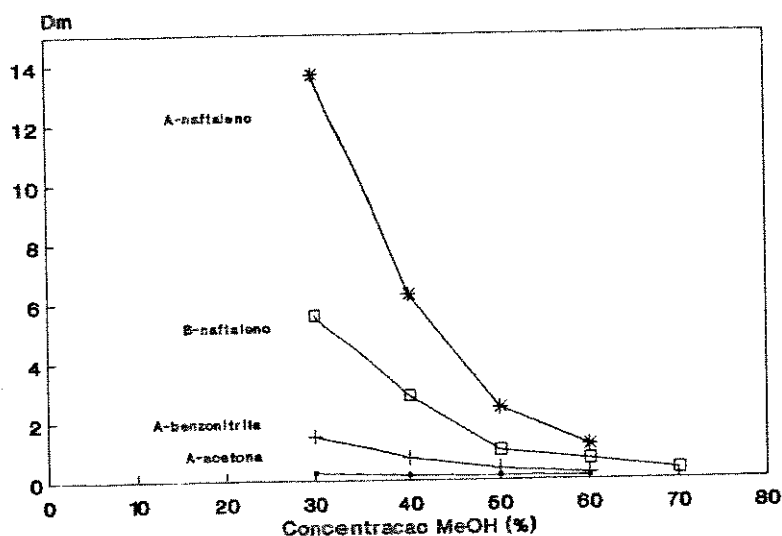


Fig.IV.7. Variação de D_m com a porcentagem de MeOH na FM para a coluna com FE:A) irradiada a 40 kGy sob nitrogênio e B) não irradiada com 30% de FEL

Quando se fez a extração por solventes, antes do enchimento, para algumas FE irradiadas, observou-se que o tempo de análise para essas colunas era relativamente grande. Fez-se, então, um estudo da melhor proporção de FM para as colunas com FE irradiadas e extraídas. A tabela IV.6 mostra os resultados obtidos para o material irradiado a 100 kGy sob condições ambientes e extraído.

Tabela IV.6. Estudo da proporção de FM para coluna irradiada a 100kGy sob condições ambientes

Proporção de FM (MeOH:H ₂ O) (v/v)	t_R^* (min)	n/η^* (m^{-1})	D_m^*	A_s^*	R_s^{**}
50:50	187,72	26297	26,40	0,97	9,76
60:40	89,85	16670	12,43	1,16	5,73
70:30	34,77	21757	4,02	1,08	3,04
80:20	20,60	14479	2,06	1,21	1,12

* para o naftaleno

** para o par acetona-benzonitrila

parâmetros medidos a uma vazão de $0,1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ com a mistura 2

Como pode observar-se na tabela IV.6, para as proporções 50:50 e 60:40, metanol:água (v/v), obteve-se valores de D_m muito altos ocasionando um longo tempo de análise. A proporção 70:30, metanol:água, pareceu a mais conveniente, pois apresentou todos os parâmetros cromatográficos bons e consistentes com a literatura³⁷. A proporção 80:20 (v/v), metanol:água, apresentou uma diminuição no valor de eficiência, além da resolução estar abaixo da aceitável pela literatura³⁴.

IV.4.2. Estudo da Melhor Vazão da Fase Móvel

Fez-se um estudo da melhor vazão da FM, pois segundo Van Deemter, na melhor vazão, também chamada vazão ótima, é encontrada a

maior eficiência. Para isso variou-se as vazões e obtiveram-se as curvas representadas na figura IV.8. O estudo da vazão foi feito para as colunas com materiais de recheio irradiados a 40 e 100 kGy nos seguintes ambientes de selagem: condições ambiente, vácuo e nitrogênio e também para coluna com material de recheio irradiado a 60 kGy sob condições ambiente e para a coluna recheada com material comercial Partisil ODS. O objetivo de variar o ambiente de selagem foi verificar se este alterava a vazão ótima.

Analisando as curvas obtidas nota-se que a vazão ótima para as doses 40 e 100 kGy seladas sob nitrogênio e condições ambiente, respectivamente foi $0,07 \text{ mL.min}^{-1}$, enquanto que para as demais doses e o material comercial obteve-se uma vazão ótima de $0,1 \text{ mL.min}^{-1}$, o que corresponde a uma velocidade linear de $0,0125 \text{ m.min}^{-1}$. Como a vazão de $0,1 \text{ mL.min}^{-1}$ foi a vazão ótima para a maioria das colunas e o tempo de análise é menor que o correspondente à vazão de $0,07 \text{ mL.min}^{-1}$, adotou para o desenvolvimento deste trabalho a vazão de $0,1 \text{ mL.min}^{-1}$.

É interessante observar que algumas destas curvas tem um formato muito parecido com a curva de Giddings¹⁰ indicando que experimentalmente as curvas obtidas são ligeiramente diferentes das curvas propostas por Van Deemter¹⁰, ou seja, com a variação da vazão não há uma variação tão abrupta da eficiência, podendo-se em alguns casos utilizar-se vazões um pouco mais altas que a vazão ótima, o que reduziria o tempo de análise, sem uma perda significativa da eficiência.

IV.5. Estudo do Ambiente de Selagem

Após ter-se estabelecido qual a melhor porcentagem de FEL sobre o suporte, preparou-se uma grande quantidade de material de recheio. Cerca de 40 g de PMODS foram dissolvidos em 800 mL de n-pentano e aproximadamente 40 g de sílica foi adicionada à solução, segundo procedimento descrito no item III.3.

Para verificar a influência do ambiente de selagem

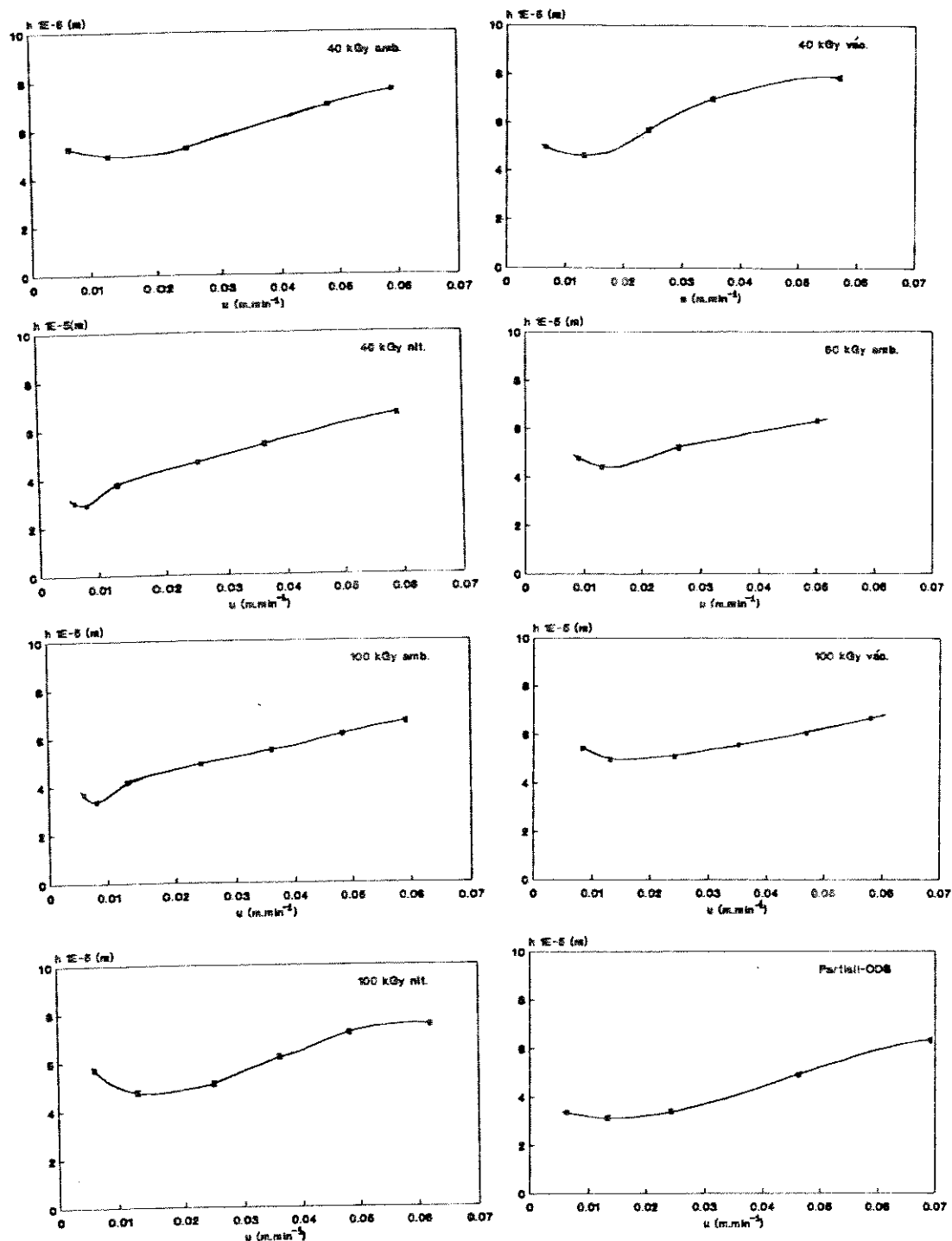


Fig.IV.8. Curvas de Van Deemter para verificar a vazão Ótima de algumas colunas irradiadas a 40 e 100 kGy sob nitrogênio, vácuo e ambiente, a 60 kGy nas condições ambiente e uma fase comercial (Partisil ODS)

analisaram-se alguns parâmetros cromatográficos em colunas recheadas com o material preparado, selado em: condições ambiente, nitrogênio, vácuo e argônio e irradiado em três doses distintas. Os parâmetros avaliados foram número de pratos teóricos por metro (n/m), razão de distribuição de massas, fator de assimetria a 10% e resolução, obtidos ao injetar a mistura 2. Os resultados encontram-se na tabela IV.7.

Tabela IV.7. Influência do ambiente de selagem nos materiais de recheio irradiados a 40, 60 e 100 kGy

ambiente de selagem	dose (kGy)	parâmetros cromatográficos [*]			
		n/η ^{***} (m ⁻¹)	D _m ^{**}	A _s ^{**}	R _s ^{***}
ambiente	40	25223	2,98	1,06	2,91
nitrogênio		24759	2,43	1,05	2,28
vácuo		21514	2,45	0,89	2,02
argônio		13366	2,43	1,05	2,28
ambiente	60	30772	5,46	0,83	5,53
nitrogênio		30826	5,69	0,84	5,75
ambiente	100	24618	2,97	0,92	2,82
nitrogênio		21723	3,34	1,09	2,89
vácuo		20489	2,97	0,92	2,82

* medidas cromatográficas utilizando-se a mistura 2, FM 50:50 MeOH:H₂O, e F=0,1 mL.min⁻¹.

** para o naftaleno

*** para o par acetona-benzonitrila

Primeiramente mandou-se irradiar o material de recheio nas doses de 40, 100 e 150 kGy seladas sob condições ambiente, nitrogênio e vácuo. Os materiais de recheio irradiados a 150 kGy apresentaram problemas durante o enchimento da coluna, pois devido a formação de grandes aglomerados, os quais apesar de submetê-los ao ultrassom não se conseguiu desagregá-los, não foi possível fazer o enchimento da coluna com o referido material. Assim, submeteu-os a extração para verificar se esses aglomerados eram desagregados para então encher as colunas. Os resultados obtidos neste teste foram discutidos anteriormente no item IV.3.

Comparando-se os resultados obtidos para as doses de 40 e 100 kGy observa-se que o vácuo foi um ambiente desfavorável para a performance cromatográfica, haja visto, que as eficiências obtidas foram menores que nos demais ambientes. Assim, mandou-se irradiar o material de recheio a 60 kGy sob nitrogênio e condições ambientes. Neste caso, houve uma pequena melhora na eficiência para selagem sob nitrogênio.

Como nas doses de 40 e 100 kGy a selagem sob condições ambientes favoreceu a eficiência e a diferença de eficiência obtida para os dois ambientes irradiados na dose de 60 kGy não foi tão grande, optou-se pela selagem sob condições ambiente. Além disto, a simplicidade desta selagem, bem como custo e tempo gasto representam em grandes vantagens sobre a selagem sob nitrogênio.

Como foi observado uma queda na eficiência das colunas recheadas com materiais irradiados sob vácuo, ou seja ausência de ar, irradiou-se o material na presença de um gás inerte, no caso argônio, para verificar se ausência de gases como nitrogênio e oxigênio desfavorecia a eficiência da coluna. Assim, conforme mostrado na tabela IV.5 houve uma queda ainda maior na eficiência. Acredita-se portanto, que a presença de nitrogênio e oxigênio favoreça, de alguma forma, a irradiação de polisiloxanos, ou seja, o entrecruzamento dos mesmos, implicando por sua vez na melhora cromatográfica das colunas. Isso foi também verificado por Anazawa².

IV.6. Avaliação dos Materiais de Recheio Irradiados

IV.6.1. Testes Químicos

IV.6.1.1. Extração por Solventes

Na tabela IV.8 encontram-se os valores de massa (em grama) dos materiais de recheio utilizados na extração por solventes, com suas doses de radiação respectivas, bem como a porcentagem de fase estacionária líquida extraída.

Observando-se os dados da tabela IV.8, nota-se que após a irradiação dos materiais houve uma diminuição na quantidade total extraída. Isto indica que houve entrecruzamento da FEL, pois quando este se dá, há uma diminuição na sua solubilidade frente a alguns solventes, o que pode ser observado para os solventes metanol e benzeno. Um estudo feito por Schomburg *et al*⁶² sobre a solubilidade de polisiloxanos após irradiação, mostrou que ocorre uma diminuição da solubilidade da FEL.

Tabela IV.8. Porcentagem de material extraído em relação a quantidade inicial de material de recheio

DOSE (kGy)	Massa inicial (g)	massa (g) após extração			% extraída com			% total ext.
		met.	benz.	n-pent.	met.	benz.	n-pent.	
0	0,3531	0,3252	0,2392	0,2370	7,90	26,45	0,92	35,27
40	0,3025	0,2916	0,2491	0,2371	3,60	14,57	3,15	21,32
60	0,3369	0,3191	0,2576	0,2575	5,28	19,30	0,04	24,62
70	0,3270	0,3112	0,2713	0,2682	4,83	12,82	1,14	18,79
80	0,3143	0,2996	0,2576	0,2540	4,68	14,02	1,40	20,10
90	0,3126	0,2894	0,2311	0,2303	7,42	20,15	0,35	27,92
150	0,3260	0,3078	0,2372	0,2368	5,58	22,94	0,17	28,69
200	0,3151	0,3011	0,2356	0,2353	4,44	21,75	0,13	26,32

A figura IV.9 mostra um gráfico do número de pratos teóricos por metro versus a % total de material extraído. Observando-se esta figura verifica-se que existe uma faixa entre 18,79 e 24,62 % de material extraído, onde se encontram eficiências boas, indicando uma maior porcentagem de fase imobilizada, ou seja, um maior entrecruzamento. Acima de 24,62% acredita-se que haja uma diminuição da eficiência como é mostrado no gráfico.

IV.6.1.2. Análise Elementar

Os resultados obtidos na análise elementar de alguns

materiais irradiados, bem como no material não irradiado e Partisil ODS, estão expostos na tabela IV.9.

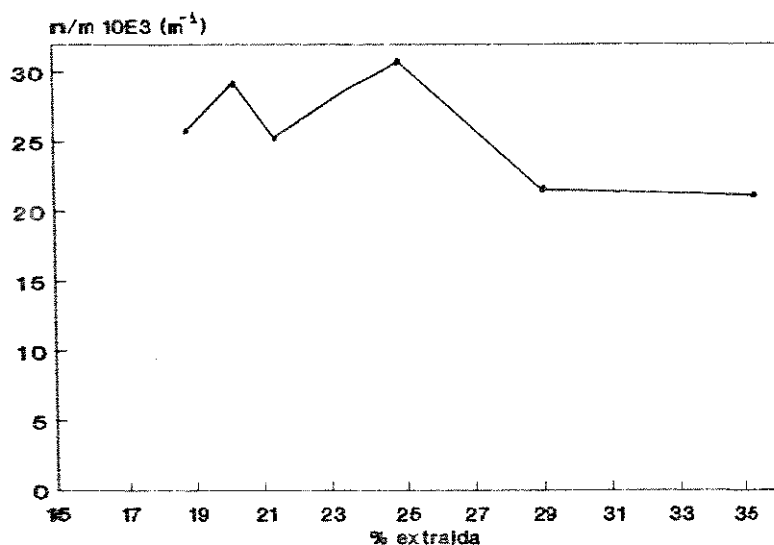


Fig. IV.9. Gráfico do número de pratos teóricos por metro versus a % de material extraído

Tabela IV.9. Teor de carbono nos materiais de recheio não irradiados, irradiados e Partisil ODS

Material de Recheio dose(kGy)	% C	
	não extraído	extraído
0	38,72	15,99
60	41,36	24,25
80	39,13	21,88
200	36,41	23,86
Partisil ODS	9,57	-

Observa-se com os dados da tabela IV.9 que o material não irradiado após a extração apresenta uma maior diminuição no teor de

carbono que os materiais irradiados. Isto confirma os dados obtidos na extração por solvente e é mais um indicativo que está havendo o entrecruzamento da FEL.

O teor de carbono da fase comercial é praticamente quatro vezes menor que o dos materiais irradiados, isso se deve provavelmente ao método de preparação da fase que tem por objetivo simplesmente ligar o polímero ao suporte e não propriamente recobri-lo.

IV.6.2. Testes Físicos

IV.6.2.1. Medida de Área Superficial Específica (S_{BET})

Na tabela IV.10 encontram-se os resultados obtidos nas medidas de área superficial específica.

Tabela IV.10. Medidas de área superficial específica da sílica, Partisil ODS, material não irradiado e materiais irradiados a 60 e 80 kGy.

AMOSTRA	S_{BET} ($m^2 \cdot g^{-1}$)
silica	387
Partisil ODS	282,80
material não irradiado	2,29
material irradiado a 60 kGy	2,00
material irradiado a 80 kGy	2,15

Analisando-se os resultados obtidos na tabela IV.10, nota-se uma ligeira diminuição na área superficial do material de recheio após a irradiação, indicando que o entrecruzamento diminuiu a área superficial específica, o que acarretou em uma melhora na performance cromatográfica da coluna. É interessante observar que a FE comercial possui uma área superficial relativamente alta comparada as fases

estacionárias preparadas, o que era esperado já que na análise elementar essa mostrou um menor teor de carbono confirmando assim, que a fase comercial parece não ter uma boa cobertura da superfície do suporte ,pois esse ainda apresenta os poros parcialmente descobertos o que permitiu uma maior adsorção do nitrogênio nesta análise.

IV.6.2.2. Espectroscopia no Infra-Vermelho

A figura IV.10 mostra os espectros dos materiais irradiados a 60, 80 e 150 kGy não extraídos e extraídos. Pode-se notar que após a extração, a intensidade da banda característica dos grupos metilas (região de 2900 cm^{-1}) da FEL diminuiu e o ombro na região de 1250 cm^{-1} também característico da FEL praticamente desapareceu. Isso significa que apesar da irradiação o entrecruzamento e/ou ligação ao suporte não são totais, ou seja, ainda resta FEL sem estar entrecruzada e/ou ligada, que foi retirada pela extração. Tanto os dados obtidos na extração como os obtidos na análise elementar mostraram retirada parcial da FEL, assim como os espectros de infra-vermelho, que mostraram ainda a presença de grupos característicos da FEL após a extração, embora com a diminuição da intensidade da banda. As atribuições de todas as bandas já foram mencionadas no item IV.1.3.2.

IV.6.2.3. Análise Termogravimétrica (TGA)

A figura IV.11 mostra as curvas termogravimétricas obtidas para os materiais de recheio não irradiado e irradiados a 60, 80 e 200 kGy. Nota-se que as curvas termogravimétricas são bastante semelhantes, principalmente no que diz respeito a primeira perda de massa em torno de 200°C .

Na segunda perda de massa observa-se que as FE irradiadas começaram a perder massa numa temperatura um pouco maior que a FE não irradiada, indicando que as FE irradiadas apresentam uma estabilidade térmica ligeiramente superior a FE não irradiada.

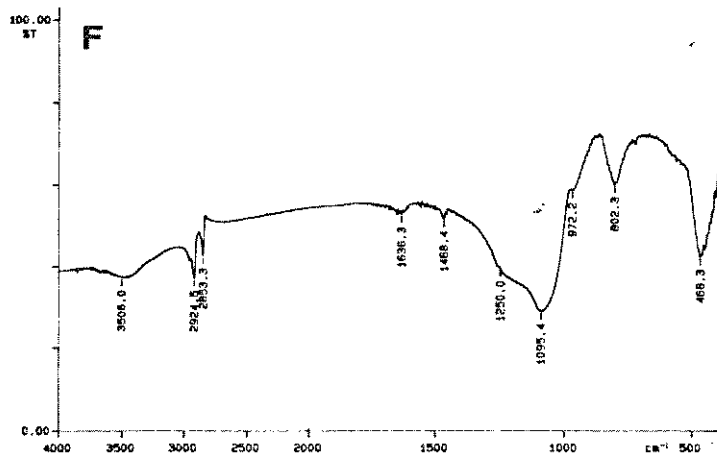
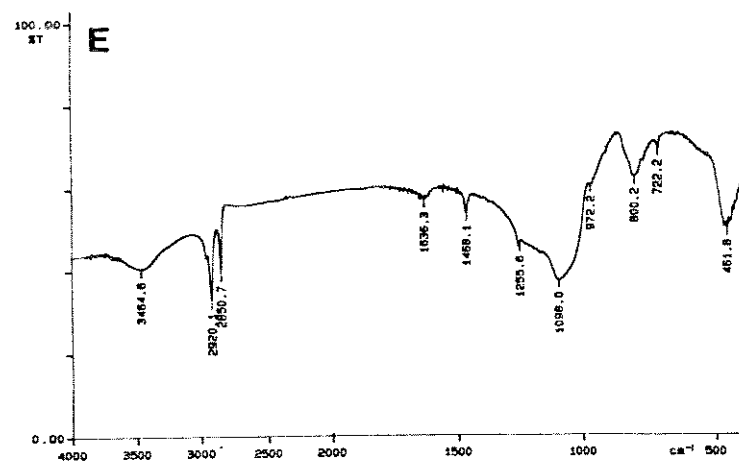
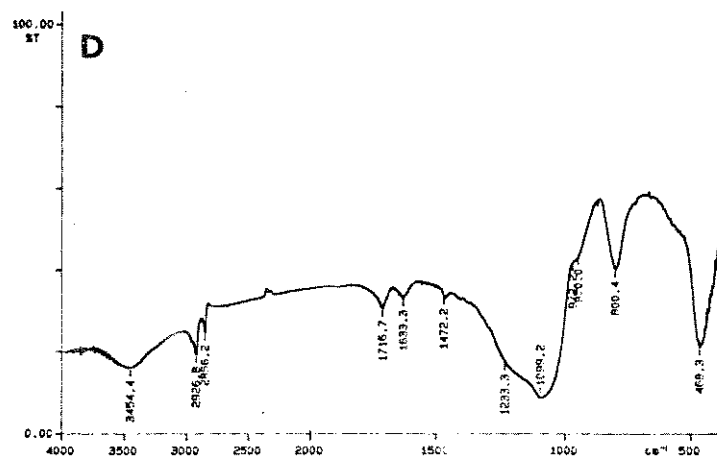
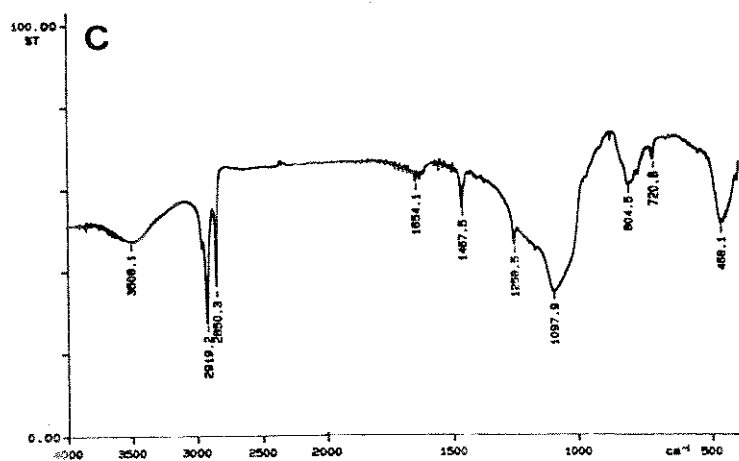
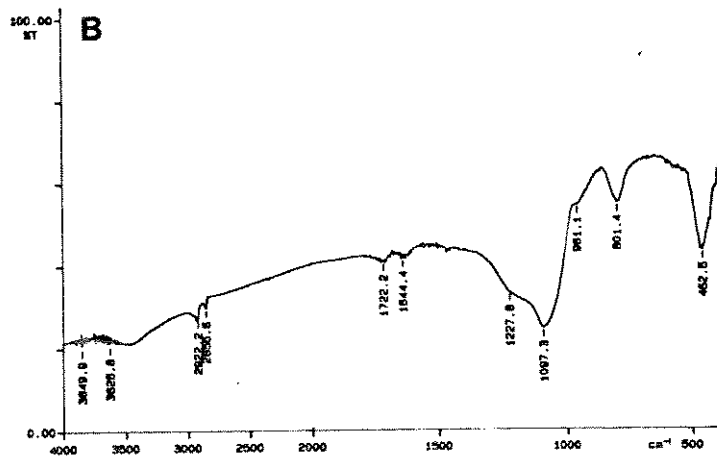
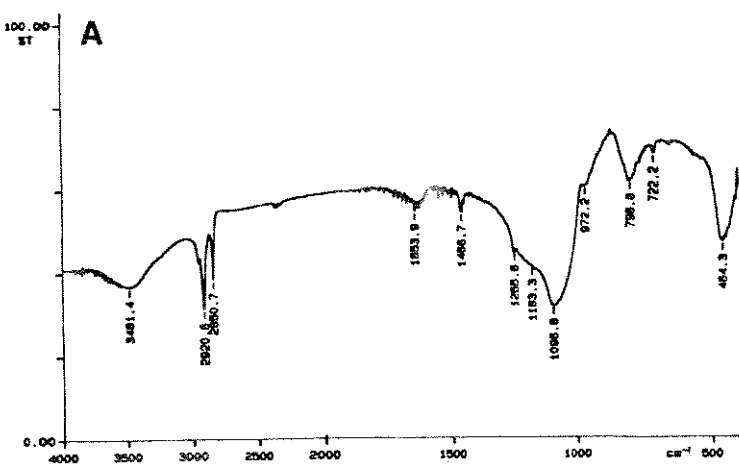


Fig. IV.10. Espectros de infra-vermelho de fases estacionárias irradiadas não extraídas e extraídas. A) 60 kGy ; B) 60 kGy extraída; C) 80 kGy; D) 80 kGy extraída; E) 150 kGy e F) 150 kGy ext.

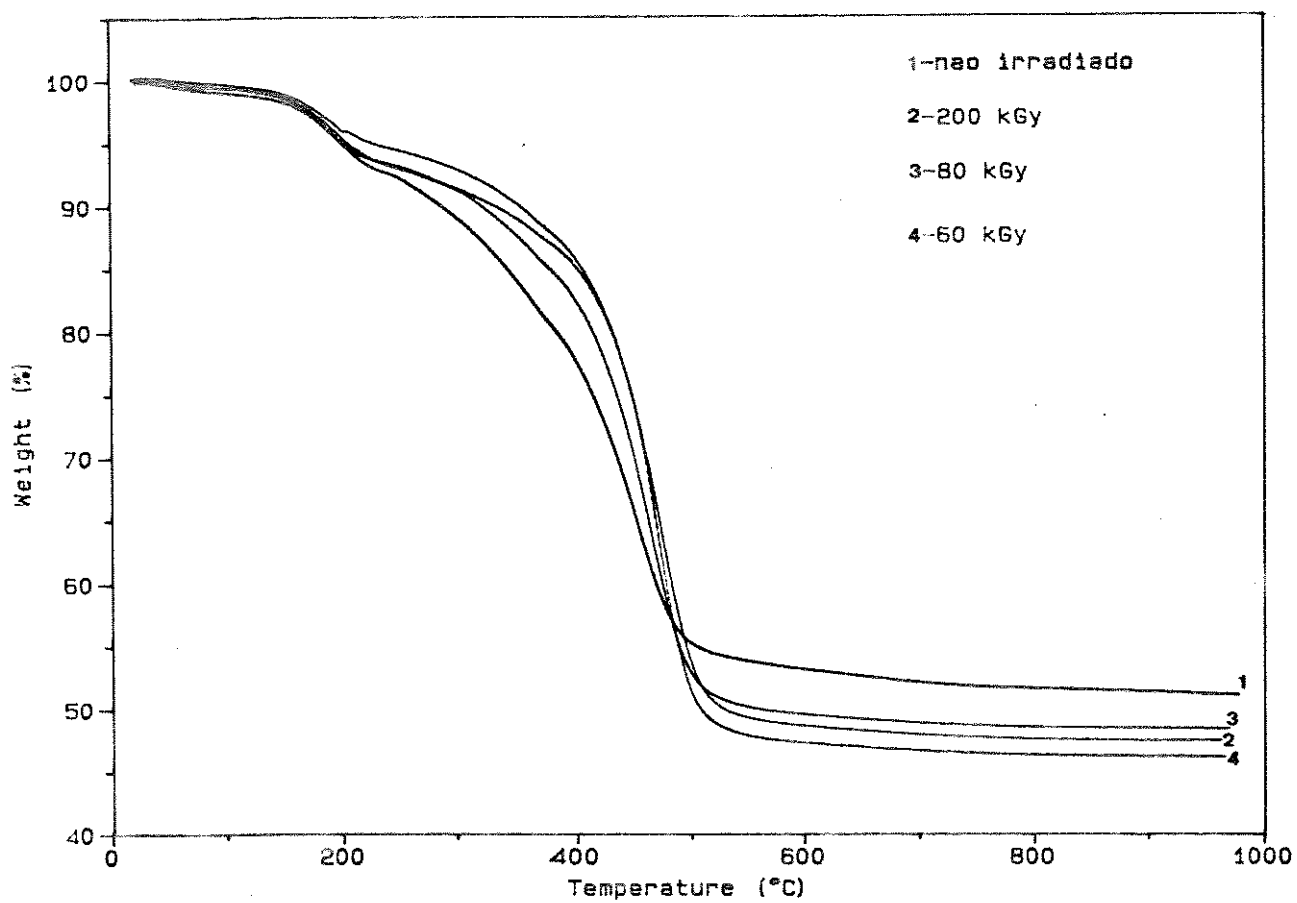


Fig. IV.11. Curvas termogravimétricas das FE não irradiada e irradiadas a 60, 80 e 200 kGy

IV.6.2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura

A figura IV.12 mostra as cópias das fotos obtidas para os materiais de recheio não irradiado e irradiado a 60 kGy, bem como o suporte puro e a fase comercial Partisil ODS. Observa-se pelas fotos que a sílica apresenta partículas irregulares, assim como o material comercial, que apesar de possuir grupos poliméricos possui aspecto muito semelhante com o suporte puro. Já os materiais preparados não irradiados e irradiados apresentam-se com aglomerados.

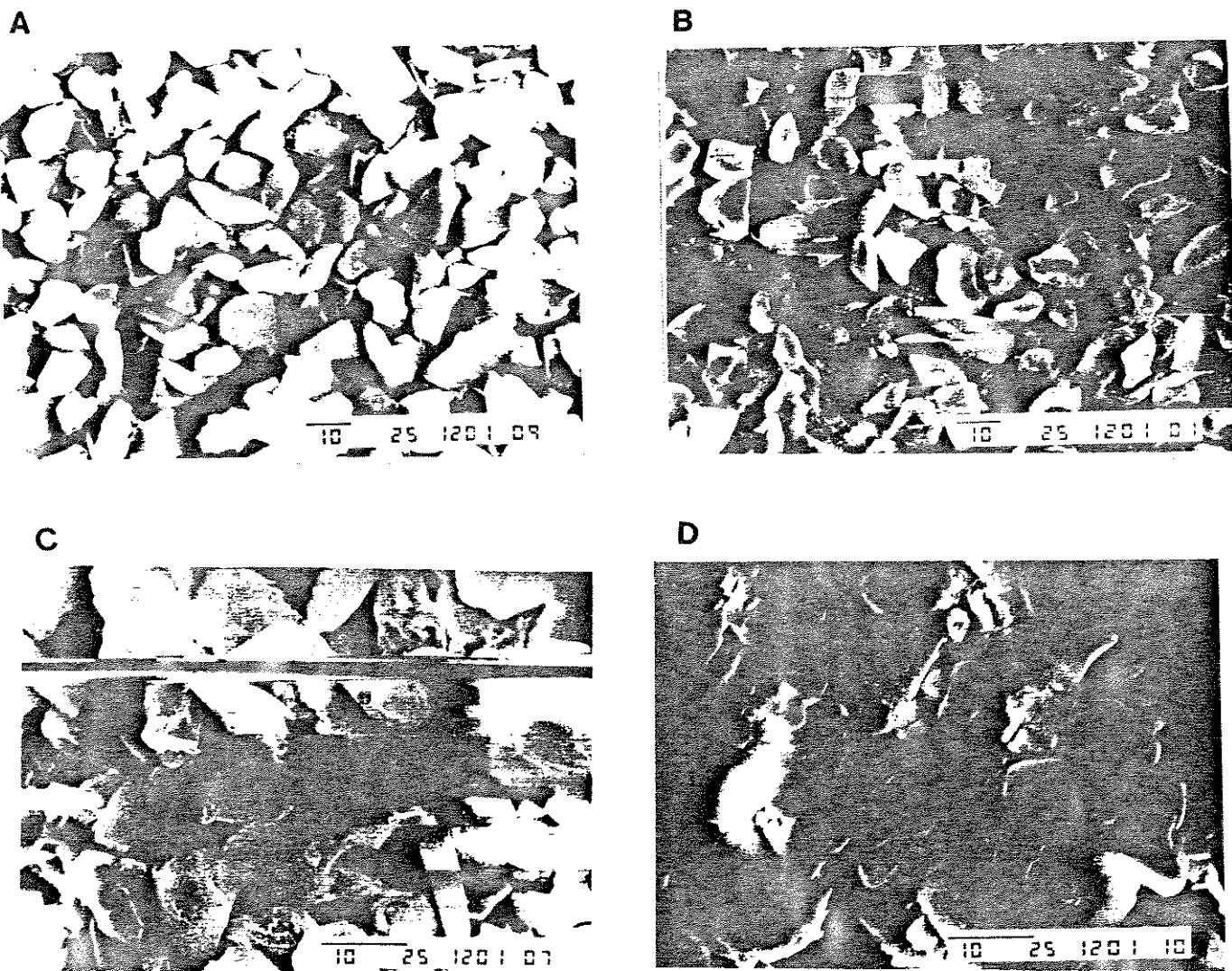


Fig.IV.12. Microscopia Eletrônica de Varredura: A) sílica gel, B) Partisil ODS, C) FE não irradiada e D) FE irradiada a 60 kGy

IV.6.3. Testes Cromatográficos

IV.6.3.1. Avaliação das Colunas quanto a Blindagem dos Grupos Silanóis e Presença de Traços de Metais

A fim de que se pudesse avaliar se a irradiação promoveu uma maior blindagem dos grupos silanóis do suporte de sílica, injetou-se a mistura 5, anilina, nitronaftaleno e naftaleno em colunas recheadas com material de recheio sem irradiar e irradiado a 60 kGy e analisou-se a assimetria, resolução e seletividade, cujo valores encontram-se na tabela IV.11.

Tabela IV.11. Valores obtidos na investigação da blindagem dos grupos silanóis para as colunas com materiais de recheio não irradiado e irradiado a 60 kGy.

DOSE (kGy)	COMPOSTO	Parâmetros Cromatográficos*			
		t_R^{**}	A_s^{**}	R_s^{***}	α^{***}
0	anilina	13,94	1,11	—	—
	nitronaftaleno	48,35	0,79	1,85	1,21
	naftaleno	56,49	0,81		
60	anilina	13,49	0,98	—	—
	nitronaftaleno	44,91	0,86	2,45	1,26
	naftaleno	54,21	0,84		

* mistura 5, FM MeOH:H₂O(50:50) e F=0,1 mL.min⁻¹

** para o naftaleno

*** para o par nitronaftaleno-naftaleno

Na figura IV.13 podem ser visualizados os cromatogramas obtidos para as colunas recheadas com FE preparadas não irradiada e irradiada a 60 kGy.

Analisando-se os dados da tabela IV.11, bem como os cromatogramas obtidos, nota-se que com a irradiação a 60 kGy houve um ligeiro aumento no parâmetro fator de separação para o par nitronaftaleno-naftaleno. A análise deste parâmetro para esse par de

solutos, segundo Verzele e Dewaele⁶⁸ é muito útil, pois permite avaliar a coluna quanto a sua blindagem a grupos silanóis. Um fator de separação entre 1,1 e 1,2 caracteriza colunas sem capeamento, ou seja com grupos silanóis expostos, enquanto que α acima de 1,2 caracteriza colunas com grupos silanóis mais desativados e α superior a 1,4 implica em colunas com capeamento. Desta forma, pode-se dizer que na coluna recheada com FE irradiada os grupos silanóis encontram-se um pouco mais blindados que na FE sem irradiar.

O teste com o par nitronaftaleno-naftaleno mostrou um fator de separação 1,07 para a coluna comercial, indicando de acordo com Verzele e Dewaele⁶⁸, que esta coluna apresenta mais grupos silanóis expostos que a preparada e irradiada a 60 kGy.

Apesar dos valores de seletividade mostrarem que a FE não irradiada pode apresentar grupos silanóis expostos, os valores de assimetria para o composto anilina em colunas recheadas com material de recheio não irradiado e irradiado a 60 kGy foram considerados ótimos. Além disso, pode-se verificar que os tempos de retenção da anilina para as colunas recheadas com materiais de recheio não irradiado e irradiado são bem próximos. Isto demonstra que os grupos silanóis estão blindados, mesmo antes da irradiação, ou seja, somente com a cobertura da superfície do suporte.

Analisando-se os cromatogramas obtidos na figura IV.14, cuja obtenção surgiu da injeção da mistura 3: fenol, anilina e naftaleno, para as colunas recheadas com material de recheio irradiado a 60 kGy e Partisil ODS, observa-se que para a coluna com FE comercial o fenol elui primeiro que a anilina. Esta ordem de eluição, segundo Engelhardt *et al*^{18,19}, significa uma má blindagem dos grupos silanóis, pois a ordem de eluição considerando colunas com boa blindagem seria anilina eluindo primeiro que fenol. Para a coluna com material de recheio irradiado a 60 kGy os picos do fenol e da anilina eluíram juntos, isso significa que está havendo uma maior blindagem dos grupos silanóis na fase preparada do que na obtida comercialmente. Este resultado confirma as conclusões obtidas através da análise do valor de fator seletividade para o par nitronaftaleno-naftaleno.

Observando-se os cromatogramas da figura IV.15, obtidos injetando-se a mistura 4: acetilacetona, nitronaftaleno e naftaleno, nota-se que as colunas com materiais não irradiado, irradiado a 60 e

80 kGy e Partisil ODS, apresentam caudas bem acentuadas para o pico da acetilacetona. Isto é um indicativo da presença de traços de metais na superfície do suporte. Alguns autores^{68,70} sugerem o tratamento da sílica com ácido para diminuir a concentração desses metais. A presença de metais nas FE é proveniente da sílica, pois em seu processo de manufatura ficam resíduos de metais. A preocupação da presença dos metais na sílica surgiu após o desenvolvimento da CLAE, que devido a sua alta sensibilidade começou a demonstrar retenção de solutos devido a presença de metais, que induzem o aumento da atividade dos grupos silanóis.^{49,65}

A sílica utilizada neste trabalho de acordo com as análises por absorção atômica, apresenta alguns metais, como ferro e titânio, que poderiam promover a ativação dos grupos silanóis. O material comercial não foi analisado, quanto ao conteúdo de metais, porém pelo cromatograma obtido verifica-se a presença destes.

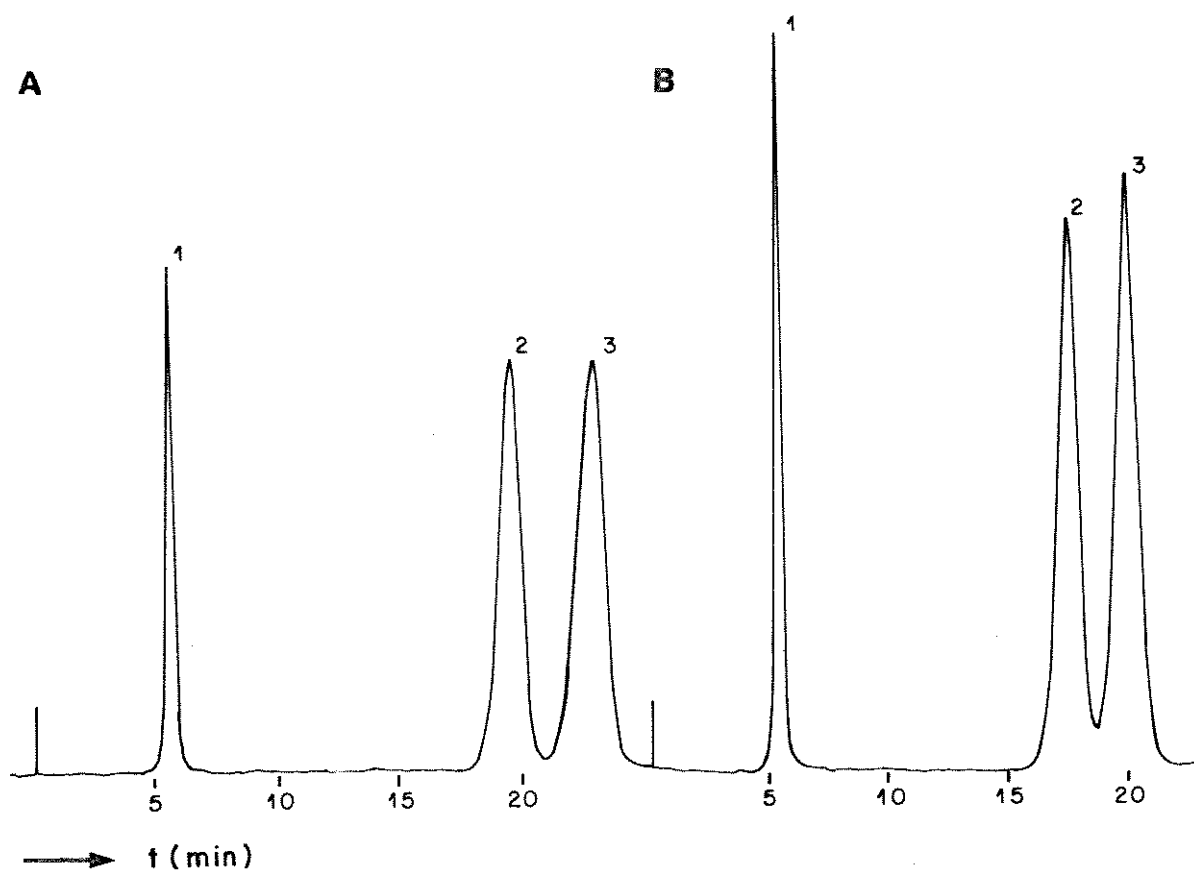


Fig. IV.13. Cromatogramas mostrando a eluição da mistura 5: 1=anilina, 2=nitronaftaleno e 3=naftaleno. A) FE não irradiada e B) FE irradiada a 60 kGy. FM:MeOH:H₂O, 50:50; $v_i=5\mu\text{L}$; $F=0,2\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $f=0,5\text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$; coluna:3,8x125 mm; $P=0\text{ MPa}$; detecção UV:254 nm

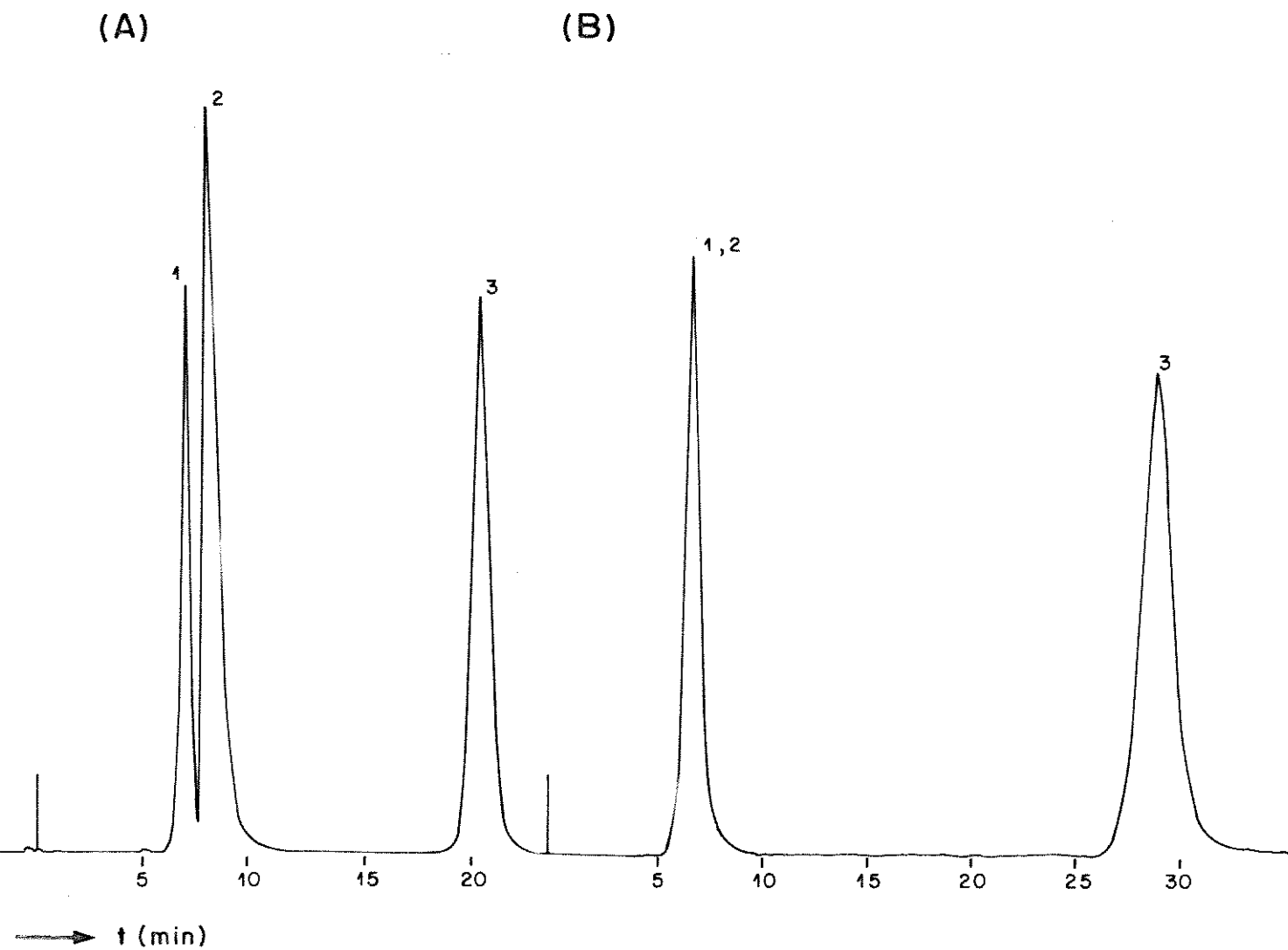


Fig. IV.14. Cromatogramas mostrando a eluição da mistura 3: 1=fenol, 2=anilina e 3=naftaleno; A)FE Partisil ODS e B)FE 60 kGy; $v_i=5\mu\text{L}$; FM:MeOH:H₂O, A)60:40 e B)50:50; P=0 MPa; F=0,2 mL.min⁻¹ f=0,5 cm.min⁻¹; coluna:3,8x125 mm; detecção UV:254 nm

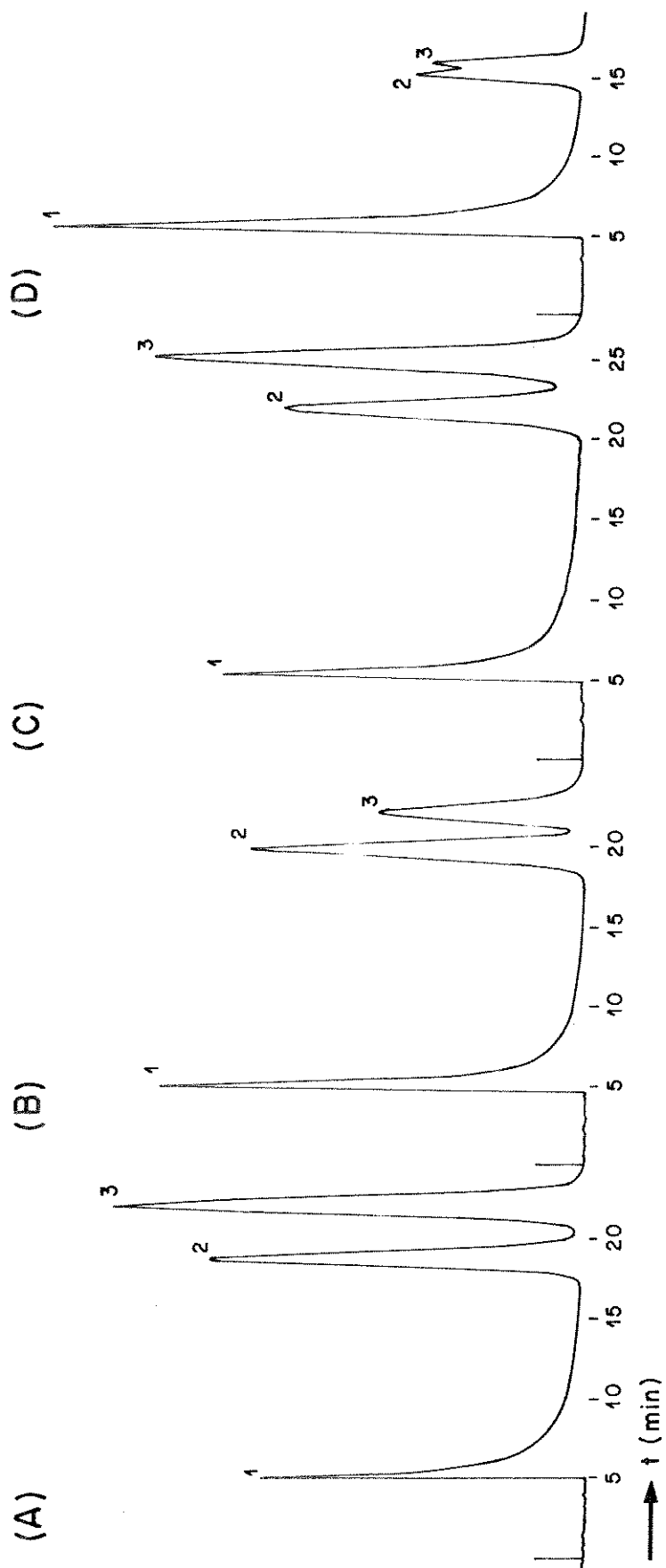


Fig. IV.15. Cromatogramas mostrando a eluição da mistura 4: 1=acetona, 2=nitronaftaleno e 3=naftaleno; A)FE não irradiada, B)FE 60 kGy, C)FE 80 kGy e D)FE Partisil ODS; $v_i=5\mu\text{L}$; FM: MeOH: H₂O, 50:50 e 60:40 p/ Partisil ODS; F=0,2 mL.min⁻¹; f=0,5 cm.min⁻¹; coluna: 3,8x125 mm; detecção UV: 254 nm; P=0MPa

IV.5.3.2. Avaliação das Colunas quanto a Dose de Radiação

Como as fases preparadas foram irradiadas em dois lotes diferentes, 40 e 100 kGy e as demais doses, agruparam-se os vários parâmetros cromatográficos obtidos na análise da mistura 2 respectivamente, nas tabelas IV.12 e IV.13.

Tabela IV.12. Parâmetros cromatográficos obtidos para as colunas com FE irradiadas a 40 e 100 kGy

DOSE (kGy)	Parâmetros Cromatográficos *				
	n/η^{**} (m^{-1})	D_m^{**}	A_s^{**}	R_s^{***}	α^{***}
40	25223	2,98	1,06	2,91	3,06
100	24618	2,97	0,92	2,82	2,94

Tabela IV.13. Valores dos parâmetros cromatográficos calculados para as colunas recheadas com o material de recheio não irradiado e irradiado em diversas doses de radiação gama

DOSE (kGy)	Parâmetros Cromatográficos *				
	n/η^{**} (m^{-1})	D_m^{**}	A_s^{**}	R_s^{***}	α^{***}
0	21099	5,13	0,71	3,35	4,18
20	21150	6,21	0,90	4,65	4,45
60	30772	5,46	0,83	5,53	3,95
70	25755	5,40	0,96	4,79	3,75
80	29233	6,52	0,79	6,14	4,16
90	21514	6,28	0,74	4,88	4,40

* mistura 2, FM MeOH:H₂O(50:50), F=0,1 mL.min⁻¹

** para o naftaleno

*** para o par acetona-benzonitrila

Observando-se os dados das tabelas IV.12 e IV.13, nota-se que após a irradiação as colunas, de um modo geral, apresentaram melhores valores de assimetria. Os valores de assimetria além de indicarem uma maior confiabilidade nos valores de eficiências calculados mostram um maior bloqueio dos grupos silanóis residuais,

causado pelo entrecruzamento promovido pela radiação gama.

Os valores de razão de distribuição de massas, D_m , apresentaram-se dentro do intervalo 2 a 10, indicando uma boa transferência de massa do soluto entre a FE e a FM, uma vez que não há nem grande retenção e nem pouca interação do soluto mais retido, naftaleno, com a FE.

Observando-se a tabela IV.12 e IV.13 juntamente com os cromatogramas da figura IV.17, verifica-se que a resolução diminuiu com a irradiação nas doses de 40 e 100 kGy. Apesar disto, todos os valores de resolução encontrados para as colunas apresentaram uma ótima separação, pois valores de R_s maiores que 1,5 denotam uma boa separação. Acredita-se que essa variação na resolução, bem como de outros parâmetros cromatográficos para as doses de 40 e 100 ocorreu devido a problemas na fonte de cobalto-60.

Analisando-se o número de pratos teóricos por metro, tabelas IV.12 e IV.13, pode-se observar que de um modo geral, as eficiências das colunas com material irradiado foram superiores àquelas com material não irradiado.

Para facilitar a visualização dos resultados obtidos, foi construído um gráfico que se encontra na figura IV.16, que mostra os valores de n/m em função da dose de radiação a qual o material de recheio foi submetido. Nota-se que as melhores eficiências foram obtidas com 60 e 80 kGy, sendo o valor máximo encontrado para a dose de 60 kGy, o que indica uma boa imobilização desta fase, enquanto que para a dose de 20 kGy o valor foi o mais baixo, o que pode indicar que talvez não esteja ocorrendo entrecruzamento suficiente para melhorar a eficiência.

Foram também irradiados materiais de recheio em 150 e 200 kGy, porém devido a não desagregação dos aglomerados, após a preparação da suspensão de enchimento não se conseguiu recheiar as colunas para fazer a análise cromatográfica. Poderia pensar que a 150 e 200 kGy estaria ocorrendo degradação da fase irradiada, com conseqüente formação de aglomerados insolúveis. Entretanto, alguns estudos feitos com a fase irradiada a 150 kGy e extraída resultaram em colunas de alta eficiência, indicando que pesquisas futuras devem ser direcionadas neste sentido.

A fim de avaliar os efeitos da radiação gama na

imobilização da fase estacionária líquida sobre suporte, comparou-se a coluna recheada com a fase estacionária comercial, com a fase estacionária irradiada a 80 kGy. Os valores dos parâmetros cromatográficos estão na tabela IV.14. Analisando-se esta tabela observa-se uma diferença significativa na eficiência das colunas, sendo a coluna com FE preparada e irradiada a 80 kGy a de maior eficiência. Os demais parâmetros foram um pouco menores para a coluna com material de recheio irradiado, entretanto ele indicam que ambas as colunas têm boas performances cromatográficas, ou seja, boa resolução, bons valores de D_m e possuem assimetria dentro dos limites da literatura¹⁴. Outro fator a favor da coluna com material irradiado é que esta apresentou um menor tempo de análise comparado a coluna com fase comercial.

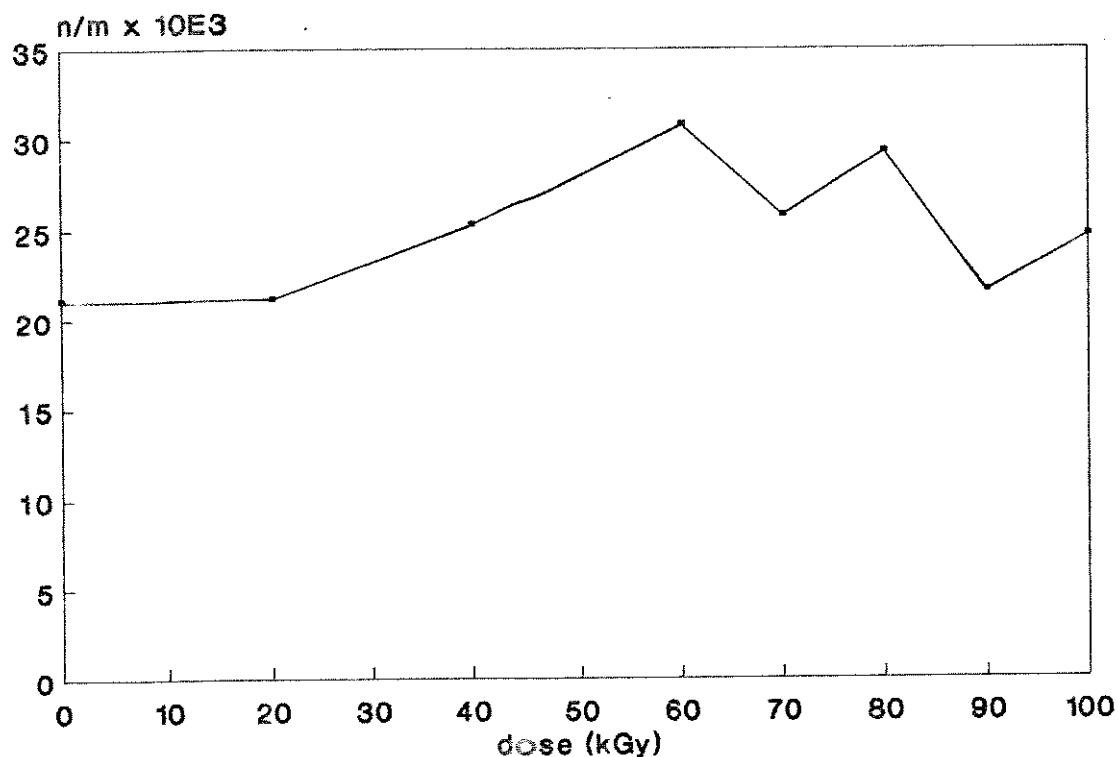


Fig.IV.16. Variação da eficiência com a dose de irradiação

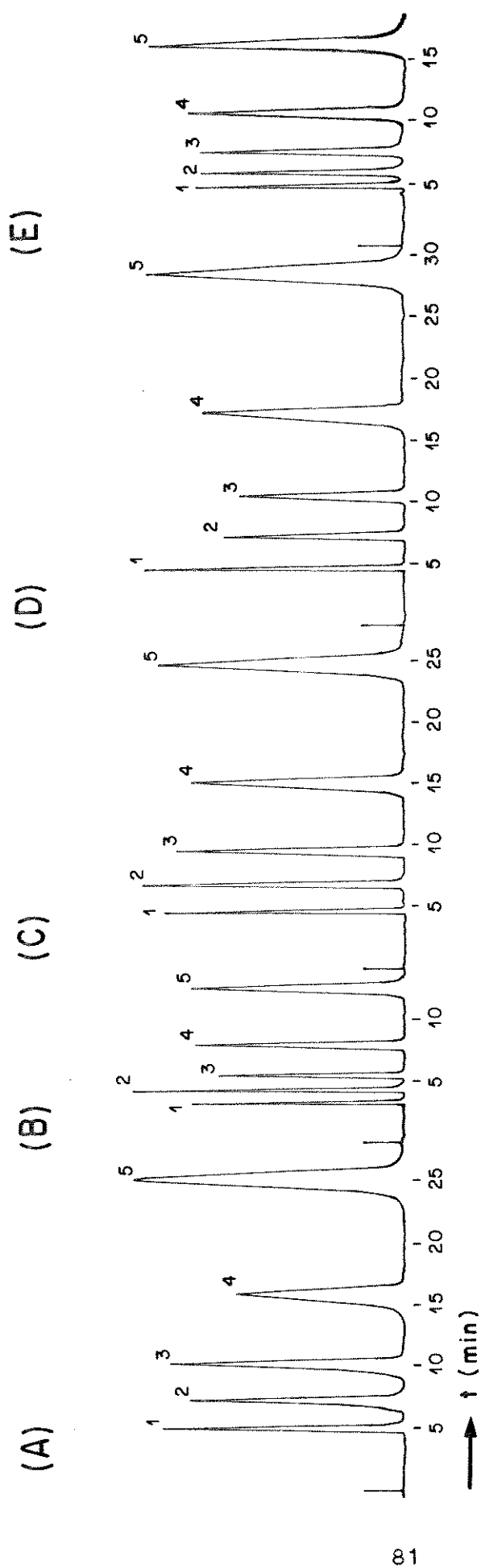


Fig. IV.17. Cromatogramas mostrando diversas doses de radiação. A) FE não irradiada, B) FE 40 kGy, C) FE 60 kGy, D) FE 80 kGy e E) FE 100 kGy; mistura 2: 1=acetona, 2=benzonitrila, 3=benzeno, 4=tolueno e 5=naftaleno; FM: MeOH:H₂O, 50:50; F=0,2 mL.min⁻¹; f=0,5 cm.min⁻¹; vi=5 μ L; coluna: 3,8x125 mm; P=0 MPa; detecção UV: 254 nm

Tabela IV.14. Parâmetros cromatográficos obtidos nas mesmas condições experimentais para colunas com FE irradiada a 80 kGy e Partisil ODS

COLUNA	Parâmetros Cromatográficos [*]				
	t_R^{**}	n/η^{**} (m^{-1})	D_m^{**}	A_s^{**}	R_s^{***}
Partisil ODS	39,04	25506	2,89	1,15	3,59
80 kGy	32,74	29047	2,62	0,91	2,78

* mistura 2, FM MeOH:H₂O (60:40), F=0,1 mL.min⁻¹

** para o naftaleno

*** para o par acetona-benzonitrila

Na figura IV.18 podem ser visualizados os cromatogramas obtidos, nas mesmas condições experimentais, com as colunas recheadas com FE comercial e FE irradiada a 80 kGy. Verifica-se que ambas colunas apresentaram picos com formas perfeitas e uma boa separação dos compostos analisados.

É importante destacar que o método de enchimento de colunas utilizado neste trabalho é muito bom, uma vez que a coluna recheada com fase comercial apresentou eficiência superior a encontrada na literatura⁵⁴ (12000-20000 pratos.m⁻¹) e as disponíveis no mercado³⁴ (20000 pratos.m⁻¹).

Compararam-se aqui as colunas com materiais Partisil ODS e 80 kGy, pois as duas puderam ser analisadas na mesma proporção de FM, ou seja, 60:40 (v/v) MeOH:H₂O, além da dose de 80 kGy ser considerada a segunda melhor dose de radiação gama. A proporção de FM 50:50 (v/v) não foi adequada para a análise da fase comercial e o mesmo aconteceu na proporção de FM 60:40 (v/v) para a fase preparada e irradiada a 60 kGy.

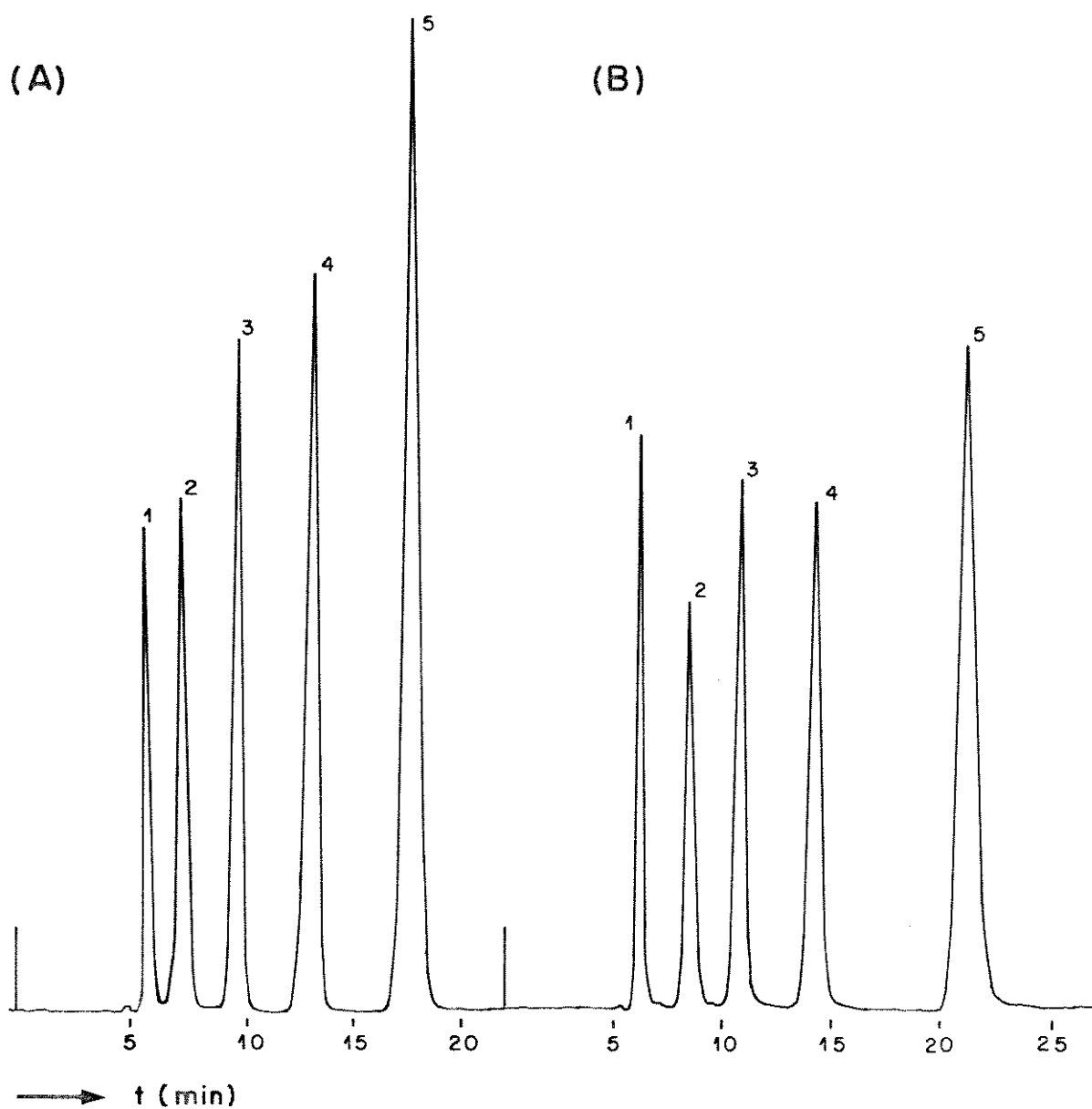


Fig. IV.18. Cromatogramas comparando-se: A) FE 80 kGY e B) FE Partisil ODS; FM: MeOH: H₂O, 60:40; F=0,2 mL.min⁻¹; f=0,5 cm.min⁻¹; P=0MPa; mistura 2: 1=acetona, 2=benzonitrila, 3=benzeno, 4=tolueno e 5=naftaleno; vi=5 µL; detecção UV: 254 nm; col.: 3,8x125 mm

IV.6.3.3. Lavagem com Solvente em Coluna Cromatográfica

Para melhor visualizar os dados obtidos, construíram-se os gráficos da figura IV.19.

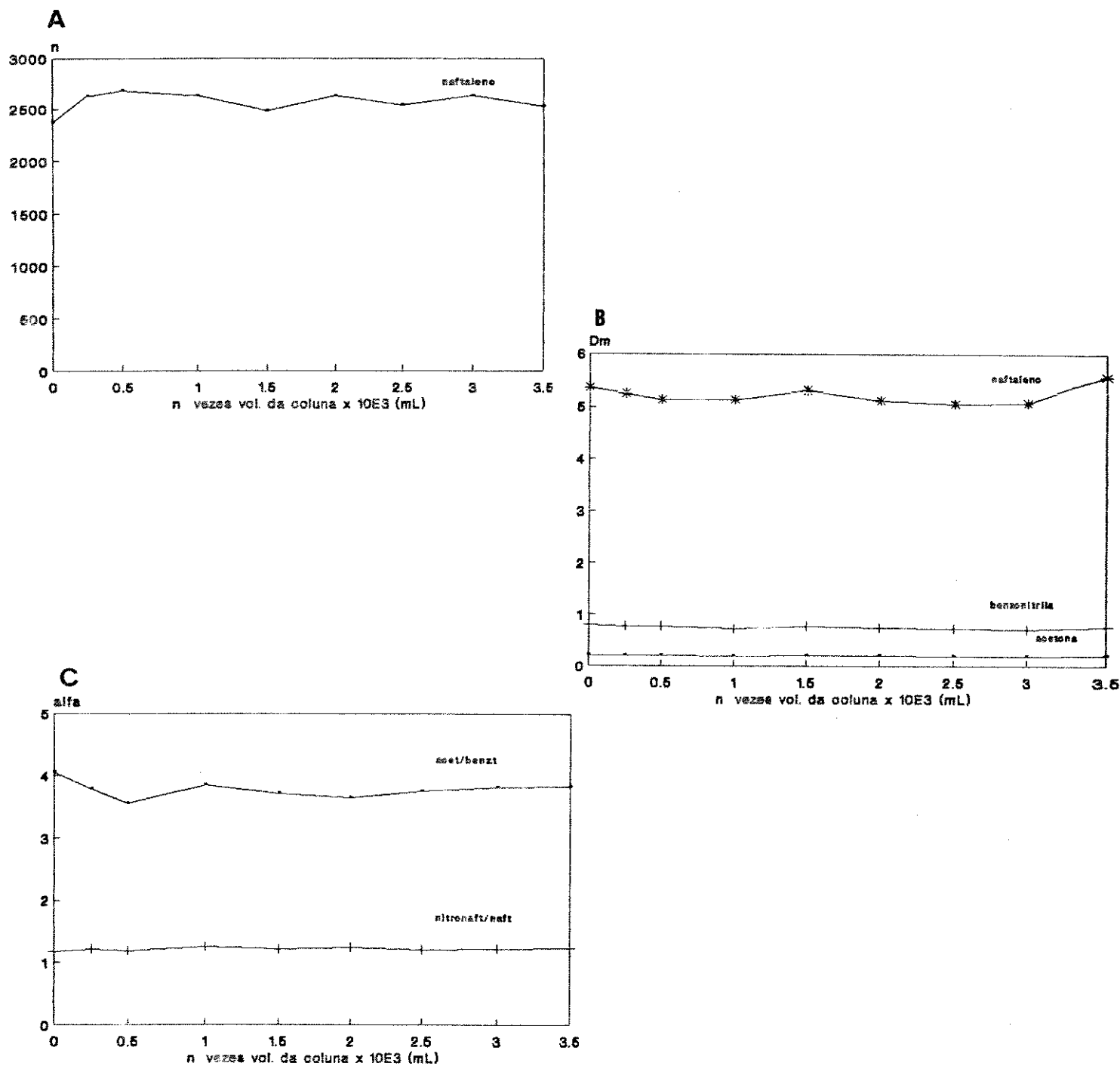


Fig. IV.19. Gráficos da lavagem da coluna recheada com material irradiado a 70 kGy. A) Variação de n ; B) Variação de D_m ; e C) Variação de α .

Observa-se que os valores de n , calculado para o naftaleno e D_m calculado para acetona, benzonitrila e naftaleno, não alteraram significativamente o que indica que a FE preparada é estável frente a mistura de solventes (metanol/água). Estes resultados são semelhantes aos obtidos na literatura.^{17,50}

O fator de separação obtido para os pares acetona-benzonitrila e nitronaftaleno-naftaleno mostraram-se praticamente estáveis durante o processo de lavagem. Chama-se atenção aqui, para o fato do fator de separação para o par nitronaftaleno-naftaleno quase não ter sido alterado durante o processo de lavagem. Este é um ótimo indicativo que os grupos silanóis não estão sendo descobertos durante o processo de lavagem, mostrando assim que a FE preparada neste trabalho é bastante estável, podendo ser utilizada com grandes volumes de FM sem perda da qualidade da fase preparada.

IV.6.3.4. Variação do Fator de Assimetria segundo a Proporção da FM

Observou-se no transcorrer deste trabalho uma variação nos fatores de assimetria conforme variava-se a proporção metanol:água da FM. Notou-se que com a diminuição da % de água na FM o fator assimetria sofria um ligeiro aumento. A tabela IV.15 mostra os resultados obtidos.

Observa-se pelos dados obtidos que valores acima de 50% de água na FM diminuem ainda mais a assimetria, distanciando do valor ideal, que é 1.

Tabela IV.15. Variação do fator de assimetria com a proporção de FM para diversas doses de irradiação.

dose (kGy)	composição da FM MeOH:H ₂ O (v/v)	Fatores de Assimetria*
40	30:70	0,61
	40:60	0,63
	50:50	1,05
	60:40	1,16
60	50:50	0,83
	60:40	0,85
70	50:50	0,96
	60:40	0,99
80	50:50	0,79
	60:40	0,91
100	50:50	0,97
	60:40	1,16

* para o naftaleno

V - CONCLUSÕES

Um dos fatores mais importantes a ser considerado quando se prepara uma fase estacionária imobilizada é a quantidade de FEL que deve recobrir o suporte. Esta quantidade parece depender das características do suporte, bem como da própria FEL. Anazawa², utilizando o mesmo suporte de sílica gel que o empregado neste trabalho, porém com uma FEL diferente, ou seja, um grupo C-8, polimetiloctilsiloxano, obteve resultados distintos dos obtidos aqui.

Os métodos físicos e químicos de análise já mencionados anteriormente, auxiliam na escolha da proporção ideal de FEL a ser depositada sobre o suporte. No desenvolvimento deste trabalho determinou-se que a quantidade ideal de FEL foi de 50% sobre 50% de sílica.

A espectroscopia de infra-vermelho mostrou, qualitativamente, através de uma comparação da intensidade do ombro, na região de 972 cm^{-1} , característico de grupos silanóis livres, nas diversas porcentagens de FEL sobre suporte (20, 30, 40, 50 e 60) que a partir de 40% de FEL ocorre uma diminuição do mesmo, verificando-se que os grupos silanóis estariam sendo mais blindados, pois a presença destes é indesejável em fases reversas.

As avaliações cromatográficas feitas com estas fases preparadas utilizando-se a mistura 1, mostrou maior eficiência para a coluna recheada com FE preparada com 50% FEL.

O ambiente de selagem dos materiais de recheio para posterior irradiação influencia na performance cromatográfica, já que no ambiente de selagem sob vácuo e argônio obtiveram-se menores eficiências que sob nitrogênio e condições ambiente. A selagem sob condições ambiente foi escolhida por ser mais simples, rápida e barata, além das eficiências, de modo geral, terem sido maiores. Os resultados indicam que a presença de gases como nitrogênio e oxigênio favorecem o entrecruzamento, melhorando a qualidade da fase preparada.

A proporção da FM, metanol:água, influencia a performance cromatográfica das colunas. Determinou-se que para os materiais não irradiados a proporção de FM ideal é de 30:70 (v/v), para os materiais

irradiados sem tratamento antes do enchimento é de 50:50 (v/v) e para os materiais irradiados e extraídos com solventes pelo método de Soxhlet, antes do enchimento é de 70:30 (v/v).

Observou-se uma melhora na assimetria dos picos após a irradiação e esta aumentou com o aumento da proporção de metanol na FM.

Os tratamentos de lavagem com metanol ou extração por solventes das fases estacionárias preparadas e irradiadas, de modo geral, não melhoraram as eficiências das colunas, optando-se portanto pelo enchimento das colunas com materiais não tratados.

Não foi possível executar o enchimento das colunas com os materiais irradiados nas doses de 150 e 200 kGy, pois estes apresentaram aglomerados de partículas muito grandes. Porém, após extração do material irradiado a 150 kGy, não só foi possível fazer o enchimento das colunas como também obteve-se colunas com boa eficiência (cerca de 28000 n/m). Acredita-se portanto, que para materiais irradiados a doses mais altas de radiação gama o tratamento via extração por solventes, antes do enchimento da coluna, parece ser adequado, porém isto deve ser estudado mais cautelosamente para outras doses. George²⁷, em seus estudos utilizou extração por solvente para tratar materiais irradiados a doses mais altas e obteve bons resultados.

A fase estacionária preparada frente a lavagem com FM mostrou-se estável para os parâmetros cromatográficos n e D_m , medidos com a eluição da mistura 2. A eluição da mistura 5, mostrou que o parâmetro fator de separação para os solutos nitronaftaleno e naftaleno permanece praticamente constante, indicando que a fase estacionária preparada e irradiada não está diminuindo a blindagem dos grupos silanóis ao longo do processo de lavagem. Este é mais um indicativo da boa qualidade e estabilidade da FE preparada. Este teste indica que as colunas podem ser usadas com vários volumes de FM sem perder a estabilidade, além disso, no caso de serem contaminadas com um determinado soluto, podem ser lavadas com FM, sem que a FEL seja removida. Portanto, a radiação gama promove uma boa imobilização da FEL.

A análise termogravimétrica mostrou que a estabilidade térmica das fases preparadas melhorou ligeiramente após a irradiação,

indicando que as fases irradiadas podem ser submetidas a temperaturas um pouco maiores, caso isso seja necessário.

A radiação gama mostrou ser um meio promissor de promover o entrecruzamento, já que se conseguiu colunas com performances cromatográficas semelhantes a fase comercial Partisil ODS. Contudo, a eficiência obtida para a FE preparada foi cerca de 31000 n/m na dose de 60 kGy, enquanto que a maior eficiência obtida para a fase comercial foi de cerca de 26000 n/m, utilizando-se o mesmo método de enchimento. Isto indica que se conseguiu atingir o objetivo proposto, de desenvolver uma tecnologia de preparação de FE que resultasse em eficiências maiores que as obtidas com a fase comercial.

Outro fator importante para salientar é que se conseguiu produzir FE com melhor blindagem dos grupos silanóis livres, pois testes com uma mistura constituída de fenol, anilina e naftaleno e outra constituída de anilina, nitronaftaleno e naftaleno, mostraram que a fase preparada neste trabalho apresenta uma melhor blindagem dos grupos silanóis que a fase comercial testada (Partisil ODS).

O método de enchimento utilizado neste trabalho foi considerado muito bom, pois para a coluna comercial como já foi mencionado acima, conseguiu-se uma eficiência de aproximadamente 26000 pratos por metro, enquanto que a eficiência obtida pela indústria especializada em enchimento é aproximadamente 20000 pratos por metro para esta mesma fase.³⁴

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) AKAPO, S. O.; FURST, A; KHONG, T. M. & SIMPSON, C. F., "Chromatographic evaluation of oligomeric C-8 reversed-phase, HPLC", J. Chromatogr., 471 (1989) 283-296
- (2) ANAZAWA, T. A., "Imobilização por radiação gama de fase estacionária líquida sobre suporte de sílica para uso em cromatografia líquida de alta eficiência", Tese de mestrado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1992
- (3) ASCAH, T. L. & FEIBUSH, B. , "Novel, highly deactivated reversed-phase for basic compounds", J. Chromatogr., 506 (1990) 357-369
- (4) BARRY, E. F.; CHABOT, G. E.; FERIOLLI, P.; HUBBALL, J. A. & RAND, E. M., "Behavior of fused silica capillaries subjected to gamma radiation. Part 2: physical aspects", J. High Chromatogr. Chromatogr. Commun., 6 (1983) 300-305
- (5) BASSO, M. A., "Avaliação da radiação gama como agente de imobilização de algumas fases estacionárias sobre suportes para uso em CG", Tese de doutorado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1989
- (6) BEMGARD, A. & BLOMBERG, L. G., "Evaluation of an immobilized cyanosilicone, 60-CN, as a stationary phase for capillary GC" , J. Chromatogr., 395 (1987) 125-144
- (7) BERTSCH, W.; PRETORIUS, V.; PEARCE, M.; THOMPSON, J. C. & SCHNAUTZ, N. G., "An improved method for the preparation of immobilized stationary phases using radiation induced polymerization", J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 5 (1982) 432-434

- (8) BIEN-VOGELSANG, U.; DEEGE, A.; FIGGE, H.; KÖHLER, J. & SCHOMBURG, G., "Syntheses of stationary phases for reversed-phase LC using silanization and polymer coating", Chromatographia, 19 (1984) 170-179
- (9) BRAITHWAITE, A. & SMITH, F. J., "Chromatographic methods ", 4^a ed., Chapman & Hall, London, 1985
- (10) BROWN, P. R. & HARTWICK, R. A., "High Performance Liquid Chromatography", John Wiley & Sons, New York, 1989
- (11) CHUANG, C. H.; SHANFIELD, H. & ZLATKIS, A., "Immobilization of silicone stationary phases on supports using ozone", Chromatographia, 23 (1987) 169-170
- (12) COLIN, H. & GUIOCHON, G., "Introduction to reversed-phase HPLC", J. Chromatogr., 141 (1977) 289-312
- (13) COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. & BONATO, P. S. coordenadores, "Introdução a métodos cromatográficos", 4^a ed., Ed. UNICAMP, Campinas, 1990
- (14) DOLAN, J. W. & SNYDER, L. R., "Troubleshooting LC systems", Humana Press, Clifton, 1989
- (15) DRIEST-VAN DEN, P. J.; RITCHIE, H. J. & ROSE, S., "Octadecyl bonded phases on silica gel supports", LC.GC, 6 (1988) 124-132
- (16) ENGELHARDT, H. & AHR, G. "Properties of chemically bonded phases", Chromatographia, 14 (1981) 227-233
- (17) ENGELHARDT, H.; LÖW, H.; EBERHARDT, W. & MAUB, M., "Polymer encapsulated stationary phases: advantages, properties and selectivities", Chromatographia, 27 (1989) 535-543
- (18) ENGELHARDT, H. & JUNGHEIM, M., "Comparison and characterization of reversed phases", Chromatographia, 29 (1990) 59-68

- (19) ENGELHARDT, H.; LÖW, H. & GÖTZINGER, W., "Chromatographic characterization of silica-based reversed phases", J. Chromatogr., 544 (1991) 371-379
- (20) ETLER, O. & VIGH, Gy., "Immobilization of stationary phase films by gamma radiation. Part 1: non polar phases, regular and tick-film capillaries", J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 7 (1984) 620-624
- (21) ETLER, O. & VIGH, Gy., "Immobilization of stationary phase films by gamma radiation. Part 2: medium-polarity OV-1701-Vi phase", J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 7 (1984) 700-702
- (22) ETLER, O. & VIGH Gy., "Immobilization of stationary phase films by gamma radiation. Part 3: polyethylene glycol-type phases", J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 8 (1985) 42-44
- (23) FACCHIN, I., "Avaliação do comportamento das fases estacionárias DC-200 e DC-QF-1 sobre chromosorb-W silanizado submetidas à radiação gama", Tese de Mestrado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1990
- (24) FIGGE, H.; DEEGE, A.; KÖHLER, J. & SCHOMBURG, G., "Stationary phases for reversed-phase liquid chromatography coating of silica by polymers of various polarities", J. Chromatogr., 351 (1986) 393-408
- (25) GAWDIZIK, J., "Column packings with immobilized polysiloxane phases for GC", Chromatographia, 31 (1991) 258-262
- (26) GEORGE, V., "All C-18 columns are the same are not they ?", Waters Column, part 1 (1990) 6-8
- (27) GEORGE, W. A., "Immobilization of stationary phases for GC by gamma radiation", Doctoral Thesis, University of Lowell, E.U.A., 1985

- (28) GROB, K. & GROB, G., "Capillary columns with immobilized stationary phases. Part 3: the basic influence of vinyl groups", J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 4 (1981) 491-494
- (29) GUAN, Y.; ZHOU, L. & SHANG, Z., "Dry-packed capillary columns for micro HPLC", J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 15 (1992) 434-436
- (30) HALÁSZ, I. & SEBASTIAN, I., "New stationary phases for chromatography", Angew. Chem., 8 (1969) 453-454
- (31) HAMILTON, R. J. & SEWELL, P. A., "Introduction to HPLC", Chapman & Hall, London, 1977
- (32) HANSON, M.; UNGER, K. K. & SCHOMBURG, G., "Non-porous polybutadiene-coated silicas as stationary phases in reversed-phase chromatography", J. Chromatogr., 517 (1990) 269-284
- (33) HENNION, M. C.; PICARD, C. & CAUDE, M., "Chromatographic evaluation of oligomeric C-8 reversed phases for use in HPLC", J. Chromatogr., 471 (1989) 283-296
- (34) HICHROM, Catálogo, 1986
- (35) HUBBALL, J. A.; DiMAURO, P. R.; BARRY, E. F. & CHABOT, G. E., "Behavior of fused silica capillaries subjected to gamma radiation. Part 1: chromatographic performance", J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 6 (1983) 241-246
- (36) HUBBALL, J. A.; DiMAURO, P. R.; BARRY, E. F.; LYONS, E. A. & GEORGE, W. A., "Developments in crosslinking of stationary phases for capillary GC by cobalt-60 gamma radiation", J. Chromatogr. Sci., 22 (1984) 185-191

- (37) KAIBARA, A.; HIROSE, M. & NAKAGAWA, T., "Retention characteristics of octadecylsilyl silica, trimethylsilyl silica and phenyldimethylsilyl silica in reversed phase liquid chromatography", Chromatographia, 30 (1990) 99-104
- (38) KATZ, E. D.; LOCHMÜLLER, C. H. & SCOTT, R. P. W., "Methanol-water association and its effect on solute retention in liquid chromatography", Anal. Chem., 61 (1989) 349-355
- (39) KÖHLER, J.; CHASE, D. B.; FARLEE, R. D.; VEGA, A. J. & KIRKLAND, J. J., "Comprehensive characterization of some silica based stationary phases for HPLC", J. Chromatogr., 352 (1986) 275-305
- (40) KÖHLER, J. & KIRKLAND, J. J., "Improved silica-based column packings for HPLC", J. Chromatogr., 385 (1987) 125-150
- (41) LIMA, M. A. F., "Desenvolvimento de colunas para HPLC e micro HPLC", Tese de Doutorado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1988
- (42) LYONS, E. A., "Immobilization of stationary phases onto chromatographic supports by gamma radiation", Diss. Abst. Int. B, 25 (1988) 5-7
- (43) MACLENNAN, J., "All C-18 columns are the same, aren't they ?", Waters Column, part a, (1990) 7-10
- (44) MAENG, K. S.; BROWN, G. R.; TRUDEL, G. J. & St-PIERRE, E. L., "The irradiation of alkylsiloxanes in the adsorbed state. Part 3: the irradiation chemistry of hexamethyldisiloxane adsorbed onto silica", Can. J. Chem., 61 (1983) 729-733
- (45) MAJORS, R. E., "Slurry packing microparticulate columns", LC, 2 (1984) 502-506

- (46) MANO, E. B., "Introdução a polímeros", 2^aed., Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 1986
- (47) MARKIDES, K.; BLOMBERG, L.; BUIJTEN, J. & WÄNNMAN, T., "Cyanosilicones as stationary phases in GC. II gum and rubber phases on fused silica", J. Chromatogr., 267 (1983) 29-38
- (48) NASUTO, R. & KWIETNIEWSKI, L., "Toluene polymer as a new stationary phase in reversed-phase column liquid chromatography", Chromatographia, 29 (1990) 597-602
- (49) NAWROCKI, J. & BUSZEWSKI, B., "Influence of silica surface chemistry and structure on the properties, structure and coverage of alkyl-bonded phases for HPLC", J. Chromatogr., 449 (1988) 1-24
- (50) OHMACHT, R.; KELE, M. & MATUS, Z., "Polymer coated stationary phases for liquid chromatography", Chromatographia, 28 (1989) 19-23
- (51) PERRY, J. A., "Introduction to Analytical gas chromatography, Marcel Dekker, Inc., New York, 1981
- (52) Petrach Systems Silanes & Silicones, Catálogo, 1989
- (53) PETSEV, N. D.; PEROV, G. I.; ALEXANDROVA, M. D. & DIMITOV, Chi., "Modification of supports with liquid phase by thermal treatment in a closed system", Chromatographia, 20 (1985) 228-230
- (54) POOLE, C. F. & SCHUETTE, S. A. "Contemporary practice of chromatography", Elsevier Science Publishing Company Inc., New York, 1984

- (55) POOLE, C. F. & POOLE, S. K., "Chromatography today" Elsevier Science Publishers, New York, 1991
- (56) SANCHEZ, E. F.; DOMINGUEZ, J. A.; MUÑOZ, J. G. & MOLERA, M. J., "Determination of the liquid loading in GC packings by an extraction method" J. Chromatogr., 299 (1984) 151-158
- (57) SANDER, L. C. & WISE, S. A., "Recent advances in bonded phases for liquid chromatography", CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry, 18 (1987) 299-415
- (58) SANTOS, M. J. T. F., "Estudo da imobilização de SE-30 sobre cromosorb W-HP através de radiação gama", Tese de mestrado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1990
- (59) SCHNABEL, W., "Polymer degradation, principles and practical applications", Hanser International, Wien, 1981
- (60) SCHOMBURG, G.; HUSMANN, H.; RUTHE, S. & HERRAIZ, M., "Crosslinking of alkylpolysiloxane films on various types of glass surfaces including fused silica using γ -radiation of a ^{60}Co cobalt-source. Comparison to crosslinking by thermal peroxid treatment", Chromatographia, 15 (1982) 599-610
- (61) SCHOMBURG, G.,; DEEGE, A.; KÖHLER, J. & BIEN-VOGELSANG, U., "Immobilization of stationary liquids in reversed and normal phase liquid chromatography production and testing of materials for bonded-phase chromatography", J. Chromatogr., 282 (1983) 27-39
- (62) SCHOMBURG, G.,; KÖHLER, J.; FIGGE, H.; DEEGE, A. & BIEN-VOGELSANG, U., "Immobilization of stationary liquids on silica particles by γ -radiation", Chromatographia, 18 (1984) 265-274
- (63) SCHOMBURG, G., "Stationary phases in HPLC", LC, CG, 6 (1988) 36-50

- (64) SNYDER, L. R. & KIRKLAND, J. J., "Introduction to modern liquid chromatography", 2^a ed., John Wiley & Sons, New York, 1979
- (65) STADALIUS, M. A.; BERUS, J. S. & SNYDER, L. R., "Reversed-phases HPLC of basic samples", LC.GC, 6 (1988) 494-500
- (66) STOUT, R. W., COX, G. B. & ODIORNE, T. J., "Surface treatment and porosity control of porous silica microspheres", Chromatographia, 24 (1987) 602-612
- (67) UNGER, K. K., "Porous silica its properties and use as support in column liquid chromatography", 3^a ed., Elsevier Science Publishing Company Inc., New York, 1986
- (68) VERZELE, M. & DEWAELE, C., "The evaluation of reversed phase HPLC packings materials", Chromatographia, 18 (1984) 84-86
- (69) VERZELE, M. & DEWAELE, C., "Low-viscosity solvent packing of HPLC columns using the "up tube" packing procedure", LC.GC, 4 (1986) 614-618
- (70) VERZELE, M., "Trace metals in silica gel-based HPLC packings materials", LC, 1 (1991) 217-218
- (71) WELSCH, T.; FRANK, H. & VIGH, G., "Silanol effects in reversed-phase liquid chromatography", J. Chromatogr., 506 (1990) 97-108
- (72) WOOD, D. L. & RABINOVICH, E. M., "Study of alkoxide silica gels by infrared spectroscopy", Applied Spectroscopy, 43 (1989) 263-267

APÊNDICE A

Tabelas com parâmetros cromatográficos medidos com
FM: MeOH:H₂O, cujas proporções encontram-se em cada tabela
coluna = 0,125 m

Tab.A.01 col. mat. recheio 30% FEL sobre sílica
mist.A. FM 30:70, F=0,4 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	1.97	1.97	1.97	0.00
		naftaleno	14.43	14.43	14.43	0.00
	wh (min)	naftaleno	0.89	0.89	0.89	0.00
	A (cm)	naftaleno	1.80	1.80	1.80	0.00
	B (cm)	naftaleno	2.40	2.35	2.38	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	1458	1458	1458	0
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	11661	11661	11661	0
	Dm	naftaleno	6.32	6.32	6.32	0.00
	As	naftaleno	0.75	0.77	0.76	0.01

Tab.A.02 col. mat. recheio 40% FEL sobre sílica
mist.1. FM 30:70, F=0,4 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	1.97	1.97	1.97	0.00
		naftaleno	13.66	13.66	13.66	0.00
	wh (min)	naftaleno	0.85	0.85	0.85	0.00
	A (cm)	naftaleno	1.80	1.85	1.83	0.04
	B (cm)	naftaleno	2.20	2.30	2.25	0.07
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	1432	1432	1432	0
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	11457	11457	11457	0
	Dm	naftaleno	5.93	5.93	5.93	0.00
	As	naftaleno	0.82	0.80	0.81	0.01

Tab.A.03 col. mat. recheio 50% FEL sobre silica
mist.1, FM 30:70, F=0,4 mL/min

PARAMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	1.83	1.85	1.84	0.01
		naftaleno	15.31	15.31	15.31	0.00
	wh (min)	naftaleno	0.91	0.89	0.90	0.01
	A (cm)	naftaleno	1.75	1.80	1.78	0.04
	B (cm)	naftaleno	2.55	2.50	2.53	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	1570	1641	1605	50
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	12556	13127	12842	404
	Dm	naftaleno	7.37	7.37	7.37	0.00
	As	naftaleno	0.69	0.72	0.70	0.02

Tab.A.04 col. material recheio 50% FEL sobre silica
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

PARAMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S		metanol	10.14	10.14	10.14	0.00
	tR (min)	acetona	11.81	12.01	11.91	0.14
		benzonitrila	17.52	17.52	17.52	0.00
		naftaleno	62.20	62.11	62.16	0.06
	wh (min)	acetona	0.89	0.89	0.89	0.00
		benzonitrila	1.08	1.08	1.08	0.00
		naftaleno	2.85	2.85	2.85	0.00
	A (cm)	naftaleno	1.15	1.20	1.17	0.04
	B (cm)	naftaleno	1.65	1.65	1.65	0.00
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2641	2634	2637	5
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	21129	21068	21099	43
	Dm	naftaleno	5.13	5.13	5.13	0.01
	As	naftaleno	0.70	0.73	0.71	0.02
	Es	acet./benz.	3.41	3.29	3.35	0.08
	alfa	acet./benz.	4.42	3.95	4.18	0.33

Tab.A.05 col. mat. recheio 50% FEL sobre silica
mist.4, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.66	9.64	9.65	0.01
		acetilac.	12.99	13.05	13.02	0.04
		nitronaft.	47.01	48.00	47.50	0.70
		naftaleno	55.31	56.02	55.67	0.50
	wh (min)	acetilac.	1.32	1.33	1.33	0.01
		nitronaft.	2.36	2.30	2.33	0.04
		naftaleno	2.76	2.72	2.74	0.03
	A (cm)	acetilac.	21.30	21.00	11.95	0.21
		nitronaft.	2.65	2.60	2.63	0.04
		naftaleno	2.70	2.75	2.73	0.04
	B (cm)	acetilac.	1.35	1.32	1.34	0.02
		nitronaft.	3.25	3.20	3.23	0.04
		naftaleno	3.80	3.8	3.80	0.00
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2227	2352	2289	89
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	17815	18817	18316	708
	Dm	naftaleno	4.73	4.80	4.76	0.05
	As	acetilac.	15.78	15.91	15.84	0.09
		nitronaft.	0.82	0.81	0.81	0.00
		naftaleno	0.71	0.72	0.72	0.01
	Rs	nitro/naft.	1.91	1.88	1.89	0.02
	alfa	nitro/naft.	1.22	1.21	1.22	0.01

Tab.A.06 col. mat. recheio 50% sobre silica
mist.5, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.78	9.78	9.78	0.00
		anilina	13.92	13.96	13.94	0.03
		nitronaft.	47.99	48.70	48.35	0.50
		naftaleno	56.24	56.73	56.49	0.35
	wh (min)	anilina	0.83	0.83	0.83	0.00
		nitronaft.	2.46	2.48	2.47	0.01
		naftaleno	2.66	2.76	2.71	0.07
	A (cm)	anilina	2.55	2.50	2.63	0.04
		nitronaft.	2.60	2.70	2.65	0.07
		naftaleno	2.90	2.95	2.93	0.04
	B (cm)	anilina	2.30	2.25	2.28	0.04
		nitronaft.	3.30	3.40	3.35	0.07
		naftaleno	3.60	3.65	3.63	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2479	2343	2411	96
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	19830	18741	19286	770
	Dm	naftaleno	4.75	4.80	4.78	0.04
	As	anilina	1.11	1.11	1.11	0.00
		nitronaft.	0.79	0.79	0.79	0.00
		naftaleno	0.81	0.81	0.81	0.00
	Rs	nitro/naft.	1.90	1.80	1.85	0.07
	alfa	nitro/naft.	1.22	1.21	1.21	0.01

Tab.A.07 col. mat. recheio irradiado 20 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	9.84	9.84	9.84	0.00
		acetona	11.81	11.81	11.81	0.00
		benzonitrila	18.70	18.50	18.60	0.14
		naftaleno	71.16	70.77	70.96	0.28
	wh (min)	acetona	0.79	0.69	0.74	0.07
		benzonitrila	0.98	0.98	0.98	0.00
		naftaleno	3.25	3.25	3.25	0.00
	A (cm)	naftaleno	1.80	1.80	1.80	0.00
		B (cm)	2.00	2.00	2.00	0.00
	C A L C U L A D O S	n	2658	2629	2644	21
		n/m (m ⁻¹)	21267	21034	21150	164
		Dm	6.23	6.19	6.21	0.03
		As	0.90	0.90	0.90	0.00
		Rs	4.58	4.72	4.65	0.09
		ALFA	4.50	4.40	4.45	0.07

Tab.A.08 col. mat. recheio irradiado 40 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	9.82	9.78	9.80	0.03
		acetona	11.22	11.18	11.20	0.03
		benzonitrila	14.06	14.02	14.04	0.03
		naftaleno	39.17	39.04	39.11	0.09
	wh (min)	acetona	0.49	0.49	0.49	0.00
		benzonitrila	0.65	0.67	0.66	0.01
		naftaleno	1.65	1.63	1.64	0.01
	A (cm)	naftaleno	4.25	4.20	4.23	0.04
		B (cm)	4.00	4.00	4.00	0.00
	C A L C U L A D O S	n	3125	3181	3153	40
		n/m (m ⁻¹)	24999	25447	25223	316
		Dm	2.99	2.98	2.98	0.01
		As	1.06	1.05	1.06	0.01
		Rs	2.93	2.88	2.91	0.04
		ALFA	3.03	3.09	3.06	0.04

Tab.A.09 col. mat. recheio irradiado 40 kGy vacuo
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	10.05	10.02	10.04	0.02
		acetona	11.52	11.54	11.53	0.01
		benzonitrila	13.78	13.76	13.77	0.01
		naftaleno	34.67	34.70	34.68	0.02
	wh (min)	acetona	0.53	0.54	0.53	0.01
		benzonitrila	0.77	0.77	0.77	0.00
		naftaleno	1.57	1.58	1.58	0.01
	A (cm)	naftaleno	4.00	4.05	4.03	0.04
		B (cm)	4.50	4.55	4.53	0.04
	n	naftaleno	2704	2675	2689	21
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	21632	21396	21514	167
	Dm	naftaleno	2.45	2.45	2.45	0.00
	As	naftaleno	0.89	0.89	0.89	0.00
	Rs	acet./benz.	2.05	1.99	2.02	0.04
	ALFA	acet./benz.	2.54	2.49	2.51	0.03

Tab.A.10 col. mat. recheio irradiado 40 kGy nit.
mist.2, FM 30:70, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.96	9.95	9.96	0.01
		acetona	12.32	12.30	12.31	0.01
		benzonitrila	24.69	24.65	24.67	0.03
		naftaleno	146.02	145.88	145.95	0.10
	wh (min)	acetona	0.63	0.64	0.64	0.01
		benzonitrila	1.30	1.29	1.30	0.01
		naftaleno	6.26	6.24	6.25	0.01
	A (cm)	naftaleno	5.70	5.65	5.68	0.04
		B (cm)	9.30	9.25	9.27	0.04
	n	naftaleno	3017	3031	3024	10
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	24136	24245	24190	77
	Dm	acetona	0.24	0.23	0.24	0.00
		benzonitrila	1.48	1.47	1.48	0.00
		naftaleno	13.66	13.65	13.65	0.01
	As	naftaleno	0.61	0.61	0.61	0.00
	Rs	acet./benz.	7.54	7.53	7.54	0.01
	ALFA	acet./benz.	6.24	6.28	6.26	0.03

Tab.A.11 col. mat. recheio irradiado 40 kGy nit.
mist.2, FM 40:60, F=0,1 ml/min

M E D I D O S	PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)		metanol	10.22	10.20	10.21	0.01
			acetona	11.73	11.70	11.72	0.02
			benzonitrila	17.91	17.90	17.90	0.01
			naftaleno	74.21	74.02	74.12	0.13
	wh (min)		acetona	0.55	0.54	0.55	0.01
			benzonitrila	0.91	0.90	0.91	0.01
			naftaleno	3.11	3.09	3.10	0.01
	A (cm)		naftaleno	5.95	5.90	5.93	0.04
	B (cm)		naftaleno	9.50	9.45	9.48	0.04
C A L C U L A D O S	n		naftaleno	3157	3182	3170	17
	n/m (m ⁻⁴)		naftaleno	25258	25455	25356	139
	Dm		acetona	0.15	0.14	0.15	0.00
			benzonitrila	0.75	0.75	0.75	0.00
			naftaleno	6.26	6.24	6.25	0.01
	As		naftaleno	0.63	0.62	0.63	0.00
	Rs		acet./benz.	4.98	5.07	5.02	0.06
	ALFA		acet./benz.	5.09	5.19	5.14	0.07

Tab.A.12 col. mat. recheio 40 kGy nit.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)		metanol	9.92	9.82	9.87	0.07
			acetona	11.26	11.18	11.22	0.06
			benzonitrila	13.56	13.46	13.51	0.07
			naftaleno	34.02	34.02	34.02	0.00
	wh (min)		acetona	0.49	0.49	0.49	0.00
			benzonitrila	0.69	0.69	0.69	0.00
			naftaleno	1.44	1.44	1.44	0.00
	A (cm)		naftaleno	3.90	4.05	3.98	0.11
	B (cm)		naftaleno	3.80	3.80	3.80	0.00
C A L C U L A D O S	n		naftaleno	3095	3095	3095	0
	n/m (m ⁻⁴)		naftaleno	24759	24759	24759	0
	Dm		acetona	0.14	0.13	0.13	0.01
			benzonitrila	0.37	0.36	0.36	0.01
			naftaleno	2.43	2.43	2.43	0.00
	As		naftaleno	1.03	1.07	1.05	0.03
	Rs		acet./benz.	2.29	2.27	2.28	0.01
	ALFA		acet./benz.	2.72	2.81	2.76	0.07

Tab.A.13 col. mat. recheio irradiado 40 kGy nit.
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.76	9.74	9.75	0.01
		acetona	10.89	10.91	10.90	0.01
		benzonitrila	11.73	11.73	11.73	0.00
		naftaleno	21.02	21.08	21.05	0.04
	wh (min)	acetona	0.55	0.55	0.55	0.00
		benzonitrila	0.67	0.69	0.68	0.01
		naftaleno	0.91	0.91	0.91	0.00
	A (cm)	naftaleno	2.30	2.25	2.28	0.04
		B (cm)	2.10	2.15	2.13	0.04
	n	naftaleno	2959	2976	2967	12
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	23669	23804	23736	96
	Dm	acetona	0.12	0.12	0.12	0.00
		benzonitrila	0.20	0.20	0.20	0.00
		naftaleno	1.15	1.16	1.16	0.00
	As	naftaleno	1.10	1.05	1.07	0.03
	Rs	acet./benz.	0.81	0.78	0.79	0.02
	ALFA	acet./benz.	1.74	1.71	1.73	0.02

Tab.A.14 col. mat. recheio irradiado 40kGy argonio
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.74	9.74	9.74	0.00
		acetona	11.42	11.52	11.47	0.07
		benzonitrila	17.52	17.72	17.62	0.14
		naftaleno	66.93	69.40	68.17	1.75
	wh (min)	acetona	0.79	0.79	0.79	0.00
		benzonitrila	1.18	1.08	1.13	0.07
		naftaleno	3.74	4.13	3.94	0.28
	A (cm)	naftaleno	1.60	1.80	1.70	0.14
		B (cm)	1.70	1.80	1.75	0.07
	n	naftaleno	1776	1566	1671	149
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	14207	12526	13366	1188
	Dm	naftaleno	5.87	6.13	6.00	0.18
		As	0.94	1.00	0.97	0.04
	Rs	acet./benz.	3.64	3.90	3.77	0.18
	ALFA	acet./benz.	4.63	4.48	4.56	0.10

Tab.A.15.col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb. seco em rotoevap.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1 CROM.2 MEDIA DESVIO			
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.84	9.86	9.85	0.01
		acetona	11.50	11.60	11.55	0.07
		benzonitrila	16.61	16.63	16.62	0.01
		naftaleno	56.30	55.89	56.10	0.29
	wh (min)	acetona	0.71	0.63	0.67	0.06
		benzonitrila	0.98	0.98	0.98	0.00
		naftaleno	2.95	3.05	3.00	0.07
	A (cm)	naftaleno	0.80	0.85	0.83	0.04
		B (cm)	1.20	1.20	1.20	0.00
	C A L C U L A D O S	n	2020	1862	1941	111
		n/m (m ⁻¹)	16157	14896	15526	892
		Dm	4.72	4.68	4.70	0.03
		As	0.67	0.71	0.69	0.03
		Rs	3.56	3.68	3.62	0.08
		alfa	4.08	3.86	3.97	0.16

Tab.A.16.col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb. seco em pl. Petri
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1 CROM.2 MEDIA DESVIO			
M E D I D O S	tR (min)	metanol	10.22	10.30	10.26	0.06
		acetona	12.01	11.95	11.98	0.04
		benzonitrila	16.52	16.40	16.46	0.08
		naftaleno	50.73	50.43	50.58	0.21
	wh (min)	acetona	0.53	0.53	0.53	0.00
		benzonitrila	0.87	0.87	0.87	0.00
		naftaleno	2.07	2.07	2.07	0.00
	A (cm)	naftaleno	0.80	0.85	0.83	0.04
		B (cm)	1.20	1.20	1.20	0.00
	C A L C U L A D O S	n	3330	3291	3311	28
		n/m (m ⁻¹)	26643	26329	26486	222
		Dm	3.96	3.93	3.95	0.02
		As	0.67	0.71	0.69	0.03
		Rs	3.79	3.74	3.77	0.04
		alfa	3.52	3.57	3.55	0.04

Tab.A.17 col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR	metanol	9.37	9.41	9.39	0.03
	(min)	acetona	11.26	11.18	11.22	0.06
		benzonitrila	16.73	16.61	16.67	0.08
		naftaleno	60.91	60.24	60.58	0.47
	wh	acetona	0.43	0.43	0.43	0.00
	(min)	benzonitrila	0.75	0.71	0.73	0.03
		naftaleno	2.32	2.28	2.30	0.03
	A	naftaleno	2.50	2.50	2.50	0.00
	(cm)					
	B	naftaleno	3.00	3.00	3.00	0.00
	(cm)					
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3822	3871	3846	34
	n/m	naftaleno	30577	30966	30772	276
	(m ⁻³)					
	Dm	naftaleno	5.50	5.43	5.46	0.05
	As	naftaleno	0.83	0.83	0.83	0.00
	Rs	acet./benz.	5.46	5.61	5.53	0.11
	ALFA	acet./benz.	3.89	4.00	3.95	0.07

Tab.A.18 col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb.
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR	metanol	9.09	9.13	9.11	0.03
	(min)	acetona	11.02	11.10	11.06	0.06
		benzonitrila	12.76	12.83	12.80	0.05
		naftaleno	27.24	27.32	27.28	0.06
	wh	acetona	0.67	0.67	0.67	0.00
	(min)	benzonitrila	0.75	0.79	0.77	0.03
		naftaleno	1.38	1.38	1.38	0.00
	A	naftaleno	1.90	2.05	1.97	0.11
	(cm)					
	B	naftaleno	2.35	2.30	2.32	0.04
	(cm)					
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2161	2173	2167	9
	n/m	naftaleno	17284	17386	17335	72
	(m ⁻³)					
	Dm	naftaleno	2.00	2.01	2.00	0.01
	As	naftaleno	0.81	0.89	0.85	0.06
	Rs	acet./benz.	1.44	1.39	1.42	0.03
	ALFA	acet./benz.	1.90	1.86	1.88	0.03

Tab.A.19 col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb.
mist.4, FM 50:50, F=0,1 mL/min

PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR	metanol	9.37	9.37	9.37	0.00
	(min)	acetilac.	12.60	12.56	12.58	0.03
		nitronaft.	46.30	46.77	46.54	0.33
		naftaleno	52.44	52.83	52.64	0.28
M E D I D O S	wh	acetilac.	1.30	1.38	1.34	0.06
	(min)	nitronaft.	2.64	2.64	2.64	0.00
		naftaleno	2.00	2.02	2.01	0.01
M E D I D O S	A	acetilac.	5.00	5.10	5.05	0.07
	(cm)					
M E D I D O S	B	acetilac.	1.10	1.00	1.05	0.07
	(cm)					
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3812	3793	3802	14
	n/n	naftaleno	30497	30342	30420	109
	(m ⁻¹)					
	Dm	naftaleno	4.60	4.64	4.62	0.03
C A L C U L A D O S	As	acetilac.	4.55	5.10	4.82	0.39
C A L C U L A D O S	Rs	nitro/naft.	1.56	1.53	1.54	0.02
C A L C U L A D O S	alfa	nitro/naft.	1.17	1.16	1.16	0.00

Tab.A.20 col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,1 mL/min

PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR	metanol	9.49	9.49	9.49	0.00
	(min)	anilina	13.54	13.44	13.49	0.07
		nitronaft.	44.80	45.02	44.91	0.16
		naftaleno	54.59	53.83	54.21	0.54
M E D I D O S	wh	anilina	0.75	0.73	0.74	0.01
	(min)	nitronaft.	2.19	2.17	2.18	0.01
		naftaleno	2.32	2.26	2.29	0.04
M E D I D O S	A	anilina	2.15	2.25	3.78	0.07
	(cm)	nitronaft.	5.35	5.40	5.38	0.04
		naftaleno	5.60	5.50	5.55	0.07
M E D I D O S	B	anilina	2.15	2.35	2.25	0.14
	(cm)	nitronaft.	6.25	6.30	6.28	0.04
		naftaleno	6.65	6.60	6.63	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3070	3146	3108	54
	n/n	naftaleno	24561	25167	24864	428
	(m ⁻¹)					
	Dm	naftaleno	4.75	4.67	4.71	0.06
C A L C U L A D O S	As	anilina	1.00	0.96	0.98	0.03
		nitronaft.	0.86	0.86	0.86	0.00
		naftaleno	0.84	0.83	0.84	0.01
C A L C U L A D O S	Rs	nitro/naft.	2.55	2.34	2.45	0.15
C A L C U L A D O S	alfa	nitro/naft.	1.28	1.25	1.26	0.02

Tab.A.21 col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb. lav. c/ met.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	8.43	8.43	8.43	0.00
		acetona	11.34	11.34	11.34	0.00
		benzonitrila	19.65	19.69	19.67	0.03
		naftaleno	87.28	87.24	87.26	0.03
	wh (min)	acetona	0.75	0.75	0.75	0.00
		benzonitrila	1.26	1.26	1.26	0.00
		naftaleno	4.09	4.02	4.06	0.05
	A (cm)	naftaleno	4.30	4.30	4.30	0.00
	B (cm)	naftaleno	5.40	5.40	5.40	0.00
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2525	2611	2568	61
	n/m (m ⁻³)	naftaleno	20201	20892	20546	488
	Dm	naftaleno	9.35	9.35	9.35	0.00
	As	naftaleno	0.80	0.80	0.80	0.00
	Rs	acet./benz.	4.87	4.89	4.88	0.02
	ALFA	acet./benz.	3.86	3.87	3.86	0.01

Tab.A.22 col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb. lav. c/ met.
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	8.86	8.86	8.86	0.00
		acetona	10.71	10.71	10.71	0.00
		benzonitrila	14.09	14.06	14.08	0.02
		naftaleno	38.94	38.79	38.82	0.17
	wh (min)	acetona	0.67	0.67	0.67	0.00
		benzonitrila	0.91	0.91	0.91	0.00
		naftaleno	1.85	1.85	1.85	0.00
	A (cm)	naftaleno	2.15	2.15	2.15	0.00
	B (cm)	naftaleno	2.45	2.40	2.43	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2457	2426	2442	21
	n/m (m ⁻³)	naftaleno	19654	19412	19533	171
	Dm	naftaleno	3.40	3.37	3.38	0.02
	As	naftaleno	0.88	0.90	0.89	0.01
	Rs	acet./benz.	2.52	2.50	2.51	0.02
	ALFA	acet./benz.	2.83	2.81	2.82	0.01

Tab.A.23 col. mat. recheio irradiado 60 kGy amb. extraído
mist.2, FM 70:30, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	6.77	6.89	6.83	0.08
		acetona	8.66	8.78	8.72	0.08
		benzonitrila	11.93	12.01	11.97	0.06
		naftaleno	51.46	51.38	51.42	0.06
	wh (min)	acetona	0.59	0.55	0.57	0.03
		benzonitrila	0.79	0.79	0.79	0.00
		naftaleno	2.83	2.79	2.81	0.03
	A (cm)	naftaleno	3.25	3.35	3.30	0.07
		B (cm)	3.50	3.35	3.43	0.11
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	1833	1881	1857	33
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	14668	15044	14856	266
	Dm	naftaleno	6.60	6.59	6.60	0.01
	As	naftaleno	0.93	1.00	0.96	0.05
	Rs	acet./benz.	2.79	2.84	2.81	0.03
	ALFA	acet./benz.	2.73	2.61	2.67	0.09

Tab.A.24 col. mat. recheio irradiado 60 kGy nit.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	9.53	9.57	9.55	0.03
		acetona	11.42	11.46	11.44	0.03
		benzonitrila	17.05	17.17	17.11	0.08
		naftaleno	63.60	63.98	63.79	0.27
	wh (min)	acetona	0.43	0.47	0.45	0.03
		benzonitrila	0.71	0.71	0.71	0.00
		naftaleno	2.40	2.44	2.42	0.03
	A (cm)	naftaleno	2.60	2.60	2.60	0.00
		B (cm)	3.10	3.10	3.10	0.00
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3894	3813	3853	58
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	31152	30500	30826	461
	Dm	naftaleno	5.67	5.71	5.69	0.03
	As	naftaleno	0.84	0.84	0.84	0.00
	Rs	acet./benz.	5.81	5.70	5.75	0.08
	ALFA	acet./benz.	3.98	3.96	3.97	0.01

Tab.A.25 col. mat. recheio irradiado 60 kGy nit. lav. c/ met.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	9.06	9.02	9.04	0.03
		acetona	11.26	11.14	11.20	0.08
		benzonitrila	18.43	18.27	18.35	0.11
		naftaleno	76.26	77.24	76.75	0.69
	wh (min)	acetona	0.39	0.39	0.39	0.00
		benzonitrila	0.83	0.75	0.79	0.06
		naftaleno	2.87	2.99	2.93	0.08
	A (cm)	naftaleno	3.10	2.95	3.03	0.11
		B (cm)	3.10	2.95	3.03	0.11
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3915	3700	3808	152
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	31320	29603	30461	1214
	Dm	naftaleno	7.42	7.53	7.47	0.08
	As	naftaleno	1.00	1.00	1.00	0.00
	Rs	acet./benz.	6.92	7.36	7.14	0.31
	ALFA	acet./benz.	4.26	4.43	4.34	0.12

Tab.A.26 col. mat. recheio irradiado 60 kGy nit. lav. c/ met.
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	8.90	8.92	8.91	0.01
		acetona	10.77	10.80	10.79	0.02
		benzonitrila	14.37	14.40	14.39	0.02
		naftaleno	41.77	41.80	41.79	0.02
	wh (min)	acetona	0.39	0.39	0.39	0.00
		benzonitrila	0.61	0.65	0.63	0.03
		naftaleno	1.56	1.60	1.58	0.03
	A (cm)	naftaleno	3.40	3.45	3.43	0.04
		B (cm)	3.85	3.80	3.82	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3975	3785	3880	135
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	31803	30276	31040	1080
	Dm	naftaleno	3.69	3.70	3.69	0.00
	As	naftaleno	0.88	0.91	0.90	0.02
	Rs	acet./benz.	4.24	4.07	4.16	0.12
	ALFA	acet./benz.	2.93	2.89	2.91	0.02

Tab.A.27 col. mat. recheio irradiado 60 kGy nit, extraído
mist.2, FM 70:30, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol acetona benzonitrila naftaleno	6.65 8.50 11.26 45.83	6.89 8.98 11.97 46.89	6.77 8.74 11.62 46.36	0.17 0.34 0.50 0.75
	wh (min)	acetona benzonitrila naftaleno	0.59 0.75 2.95	0.59 0.83 2.95	0.59 0.79 2.95	0.00 0.06 0.00
	A (cm)	naftaleno	2.60	2.70	2.65	0.07
	B (cm)	naftaleno	3.70	3.85	3.78	0.11
	n	naftaleno	1338	1401	1370	44
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	10706	11207	10957	354
	Dm	naftaleno	5.89	6.05	5.97	0.11
	As	naftaleno	0.70	0.70	0.70	0.00
	Rs	acet./benz.	2.42	2.48	2.45	0.04
	ALFA	acet./benz.	2.49	2.28	2.39	0.15

Tab.A.28 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol acetona benzonitrila naftaleno	9.45 11.42 16.83 60.63	9.45 11.42 16.83 60.24	9.45 11.42 16.83 60.44	0.00 0.00 0.00 0.28
	wh (min)	acetona benzonitrila naftaleno	0.49 0.79 2.46	0.49 0.89 2.56	0.49 0.84 2.51	0.00 0.07 0.07
	A (cm)	naftaleno	1.15	1.15	1.15	0.00
	B (cm)	naftaleno	1.20	1.20	1.20	0.00
	n	naftaleno	3368	3070	3219	211
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	26346	24563	25755	1685
	Dm	naftaleno	5.42	5.37	5.40	0.03
	As	naftaleno	0.96	0.96	0.96	0.00
	Rs	acet./benz.	4.97	4.61	4.79	0.25
	ALFA	acet./benz.	3.75	3.75	3.75	0.00

Tab.A.29 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

PARÂMETROS COMPOSTO			CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.21	9.21	9.21	0.00
		acetona	10.91	10.91	10.91	0.00
		benzonitrila	13.27	13.27	13.27	0.00
		naftaleno	31.38	31.18	31.28	0.14
	wh (min)	acetona	0.51	0.47	0.49	0.03
		benzonitrila	0.71	0.67	0.69	0.03
		naftaleno	1.38	1.38	1.38	0.00
	A (cm)	naftaleno	1.55	1.65	1.60	0.07
		B (cm)	naftaleno	1.65	1.60	1.63
	C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2867	2831	2849
n/m (m ⁻¹)		naftaleno	22937	22646	22791	206
Dm		naftaleno	2.41	2.39	2.40	0.02
As		naftaleno	0.94	1.03	0.99	0.06
Rs		acet./benz.	2.28	2.44	2.36	0.11
alfa		acet./benz.	2.39	2.39	2.39	0.00

Tab.A.30 col. mat. recheio irradiado 80kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
MEDIDAS	tR (min)	metanol	9.29	9.25	9.27	0.03
		acetona	11.30	11.30	11.30	0.00
		benzonitrila	17.68	17.64	17.66	0.03
		naftaleno	70.00	69.65	69.82	0.25
	wh (min)	acetona	0.43	0.43	0.43	0.00
		benzonitrila	0.79	0.79	0.79	0.00
		naftaleno	2.72	2.72	2.72	0.00
	A (cm)	naftaleno	2.80	2.85	2.82	0.04
		B (cm)	naftaleno	3.55	3.60	3.57
	CALCULADOS	n	naftaleno	3672	3636	3654
n/m (m ⁻¹)		naftaleno	29380	29087	29233	207
Dm		naftaleno	6.53	6.50	6.52	0.03
As		naftaleno	0.79	0.79	0.79	0.00
Rs		acet./benz.	6.16	6.12	6.14	0.03
ALFA		acet./benz.	4.17	4.15	4.16	0.01

Tab.A.31 col. mat. recheio irradiado 80 kGy amb.
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.05	9.13	9.09	0.06
		acetona	10.83	10.83	10.83	0.00
		benzonitrila	13.31	13.35	13.33	0.03
		naftaleno	32.80	32.68	32.74	0.08
	wh (min)	acetona	0.43	0.43	0.43	0.00
		benzonitrila	0.63	0.63	0.63	0.00
		naftaleno	1.26	1.30	1.28	0.03
	A (cm)	naftaleno	1.50	1.45	1.48	0.04
		naftaleno	1.65	1.60	1.63	0.04
	B (cm)	naftaleno	1.65	1.60	1.63	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3758	3504	3631	179
	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	30061	28033	29047	1434
	Dm	naftaleno	2.62	2.61	2.62	0.01
	As	naftaleno	0.91	0.91	0.91	0.00
	Rs	acet./benz.	2.75	2.80	2.78	0.03
	ALFA	acet./benz.	2.39	2.42	2.40	0.02

Tab.A.32 col. mat. recheio irradiado 80 kGy amb.
mist.4, FM 50:50, F=0,1 mL/min

PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.15	9.15	9.15	0.00
		acetilac.	13.23	13.09	13.16	0.10
		nitronaft.	53.74	53.44	53.59	0.21
		naftaleno	61.81	61.71	61.76	0.07
	wh (min)	acetilac.	2.17	1.97	2.07	0.14
		nitronaft.	3.15	3.05	3.10	0.07
		naftaleno	2.41	2.41	2.41	0.00
	A (cm)	acetilac.	8.50	7.85	8.05	0.46
		nitronaft.	1.55	1.60	1.58	0.04
	B (cm)	naftaleno	1.35	1.30	1.33	0.04
C A L C U L A D O S	B (cm)	acetilac.	1.10	1.00	1.05	0.07
		nitronaft.	1.50	1.50	1.50	0.00
		naftaleno	1.65	1.65	1.65	0.00
	n	naftaleno	3647	3636	3642	8
	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	29179	29085	29132	67
	Dm	naftaleno	5.76	5.74	5.75	0.01
C A L C U L A D O S	As	acetilac.	7.73	7.85	7.79	0.09
		nitronaft.	1.03	1.07	1.05	0.02
	Rs	naftaleno	0.82	0.79	0.80	0.02
		nitro/naft.	1.71	1.78	1.75	0.05
C A L C U L A D O S	alfa	nitro/naft.	1.18	1.19	1.18	0.00

Tab.A.33 col. mat. recheio irradiado 80 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol anilina nitronaft. naftaleno	9.45 14.25 52.52 60.69	9.45 14.17 51.93 60.10	9.45 14.21 52.23 60.39	0.00 0.06 0.42 0.42
A D I C A D O S	wh (min)	anilina nitronaft. naftaleno	1.34 2.95 2.37	1.38 2.95 2.35	1.36 2.95 2.36	0.03 0.00 0.01
	A (cm)	anilina nitronaft. naftaleno	2.80 1.50 1.35	2.80 1.50 1.35	2.15 1.50 1.35	0.00 0.00 0.00
C A L C U L A D O S	B (cm)	anilina nitronaft. naftaleno	1.25 1.30 1.55	1.25 1.35 1.50	1.25 1.33 1.53	0.00 0.04 0.04
	n	naftaleno	3636	3627	3631	7
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	29089	29014	29051	53
	Dm	naftaleno	5.42	5.36	5.39	0.04
C A L C U L A D O S	As	anilina nitronaft. naftaleno	2.24 1.15 0.87	2.24 1.11 0.90	2.24 1.13 0.89	0.00 0.03 0.02
	Rs	nitro/naft.	1.81	1.81	1.81	0.00
C A L C U L A D O S	alfa	nitro/naft.	1.19	1.19	1.19	0.00

Tab.A.34 col. mat. recheio irradiado 80kGy amb. lav. c/ met.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol acetona benzonitrila naftaleno	9.65 11.81 20.67 92.81	9.35 12.01 20.67 96.06	9.50 11.91 20.67 94.44	0.21 0.14 0.00 2.30
A D I C A D O S	wh (min)	acetona benzonitrila naftaleno	0.59 1.08 4.53	0.69 1.08 4.63	0.64 1.08 4.58	0.07 0.00 0.07
	A (cm)	naftaleno	1.80	1.90	1.85	0.07
C A L C U L A D O S	B (cm)	naftaleno	2.20	2.30	2.25	0.07
	n	naftaleno	2328	2387	2357	42
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	18620	19095	18857	336
	Dm	naftaleno	8.62	8.95	8.79	0.24
C A L C U L A D O S	As	naftaleno	0.82	0.83	0.82	0.01
	Rs	acet./benz.	6.24	5.76	6.00	0.34
C A L C U L A D O S	ALFA	acet./benz.	5.10	4.67	4.89	0.31

Tab.A.35 col. mat. recheio irradiado 80kGy amb. lav. c/ met.
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	8.74	8.74	8.74	0.00
		acetona	10.71	10.71	10.71	0.00
		benzonitrila	14.57	14.57	14.57	0.00
		naftaleno	43.27	43.07	43.17	0.14
	wh (min)	acetona	0.79	0.79	0.79	0.00
		benzonitrila	0.94	0.94	0.94	0.00
		naftaleno	1.97	1.97	1.97	0.00
	A (cm)	naftaleno	2.35	2.40	2.38	0.04
		B (cm)	naftaleno	2.35	2.30	2.32
	C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2675	2650	2663
n/m (m ⁻¹)		naftaleno	21401	21204	21302	140
Dm		naftaleno	3.95	3.93	3.94	0.02
As		naftaleno	1.00	1.04	1.02	0.03
Rs		acet./benz.	2.63	2.63	2.63	0.00
ALFA		acet./benz.	2.96	2.96	2.96	0.00

Tab.A.36 col. mat. recheio irradiado 90 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.53	9.41	9.47	0.08
		acetona	11.34	11.42	11.38	0.06
		benzonitrila	17.56	17.76	17.66	0.14
		naftaleno	69.11	69.63	69.37	0.37
	wh (min)	acetona	0.59	0.59	0.59	0.00
		benzonitrila	0.91	0.94	0.93	0.02
		naftaleno	3.15	3.15	3.15	0.00
	A (cm)	naftaleno	1.25	1.25	1.25	0.00
		B (cm)	naftaleno	1.70	1.70	1.70
	C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2669	2709	2689
n/m (m ⁻¹)		naftaleno	21353	21675	21514	228
Dm		naftaleno	6.25	6.31	6.28	0.04
As		naftaleno	0.74	0.74	0.74	0.00
Rs		acet./benz.	4.88	4.88	4.88	0.00
alfa		acet./benz.	4.44	4.35	4.40	0.06

Tab.A.37 col. mat. recheio irradiado 100 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.78	9.80	9.79	0.01
		acetona	11.28	11.32	11.30	0.03
		benzonitrila	14.23	14.26	14.25	0.02
		naftaleno	38.84	38.90	38.87	0.04
	wh (min)	acetona	0.47	0.48	0.48	0.01
		benzonitrila	0.75	0.76	0.76	0.01
		naftaleno	1.65	1.65	1.65	0.00
	A (cm)	naftaleno	4.05	4.05	4.05	0.00
		B (cm)	4.40	4.40	4.40	0.00
	C A L C U L A D O S	n	3073	3082	3077	7
		n/m (m ⁻¹)	24580	24656	24618	54
		Dm	2.97	2.98	2.97	0.00
		As	0.92	0.92	0.92	0.00
		Rs	2.85	2.79	2.82	0.04
		ALFA	2.97	2.91	2.94	0.04

Tab.A.38 col. mat. recheio irradiado 100 kGy vacuo
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	9.92	9.90	9.91	0.01
		acetona	11.58	11.54	11.55	0.01
		benzonitrila	14.94	14.94	14.94	0.00
		naftaleno	42.85	42.90	42.88	0.04
	wh (min)	acetona	0.55	0.55	0.55	0.00
		benzonitrila	0.83	0.84	0.84	0.01
		naftaleno	1.99	2.00	2.00	0.01
	A (cm)	naftaleno	5.10	5.15	5.13	0.04
		B (cm)	4.60	4.65	4.63	0.04
	C A L C U L A D O S	n	2571	2551	2561	14
		n/m (m ⁻¹)	20568	20410	20489	111
		Dm	3.32	3.32	3.32	0.00
		As	1.11	1.11	1.11	0.00
		Rs	2.88	2.88	2.88	0.00
		ALFA	3.06	3.10	3.08	0.03

Tab.A.39 col. mat. recheio irradiado 100 kGy nit.
mist.2, FM 50:50, f=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	9.67	9.70	9.68	0.02
		acetona	11.26	11.23	11.25	0.02
		benzonitrila	14.59	14.60	14.60	0.01
		naftaleno	41.87	42.00	41.94	0.09
	wh (min)	acetona	0.57	0.58	0.58	0.01
		benzonitrila	0.79	0.79	0.79	0.00
		naftaleno	1.89	1.90	1.90	0.01
	A (cm)	naftaleno	4.95	4.95	4.95	0.00
		B (cm)	4.55	4.50	4.53	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2721	2710	2715	8
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	21771	21676	21723	67
	Dm	naftaleno	3.33	3.34	3.34	0.01
	As	naftaleno	1.09	1.10	1.09	0.01
	Rs	acet./benz.	2.88	2.90	2.89	0.01
	ALFA	acet./benz.	3.09	3.16	3.13	0.05

Tab.A.40 col. mat. recheio irradiado 100 kGy amb. extraído
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	6.85	6.85	6.85	0.00
		acetona	9.84	9.85	9.85	0.01
		benzonitrila	23.82	23.90	23.86	0.06
		naftaleno	187.44	188.00	187.72	0.40
	wh (min)	acetona	0.51	0.51	0.51	0.00
		benzonitrila	1.18	1.18	1.18	0.00
		naftaleno	7.72	7.70	7.71	0.01
	A (cm)	naftaleno	8.60	8.55	8.58	0.04
		B (cm)	8.90	8.85	8.88	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3269	3305	3287	26
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	26151	26444	26297	207
	Dm	naftaleno	26.36	26.45	26.40	0.06
	As	naftaleno	0.97	0.97	0.97	0.00
	Rs	acet./benz.	9.74	9.79	9.76	0.03
	ALFA	acet./benz.	5.68	5.68	5.68	0.01

Tab.A.41 col. mat. recheio irradiado 100 kGy amb. extraído
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	6.69	6.72	6.71	0.02
		acetona	9.06	9.10	9.08	0.03
		benzonitrila	15.94	15.96	15.95	0.01
		naftaleno	89.80	89.90	89.85	0.07
	wh (min)	acetona	0.43	0.44	0.44	0.01
		benzonitrila	0.98	0.97	0.98	0.01
		naftaleno	4.65	4.62	4.64	0.02
	A (cm)	naftaleno	5.50	5.50	5.50	0.00
		B (cm)	4.75	4.70	4.73	0.04
	n	naftaleno	2068	2100	2084	22
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	16544	16797	16670	179
	Dm	naftaleno	12.42	12.44	12.43	0.01
	As	naftaleno	1.16	1.17	1.16	0.01
	Rs	acet./benz.	5.74	5.73	5.73	0.01
	ALFA	acet./benz.	3.90	3.85	3.87	0.04

tab.A.42 col. mat. recheio irradiado 100 kGy amb. extraído
mist.2, FM 70:30, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	6.93	6.93	6.93	0.00
		acetona	8.62	8.62	8.62	0.00
		benzonitrila	11.18	11.18	11.18	0.00
		naftaleno	34.78	34.76	34.77	0.01
	wh (min)	acetona	0.43	0.43	0.43	0.00
		benzonitrila	0.57	0.55	0.56	0.01
		naftaleno	1.57	1.57	1.57	0.00
	A (cm)	naftaleno	3.75	3.80	3.78	0.04
		B (cm)	3.50	3.50	3.50	0.00
	n	naftaleno	2721	2718	2720	2
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	21770	21745	21757	18
	Dm	naftaleno	4.02	4.02	4.02	0.00
	As	naftaleno	1.07	1.09	1.08	0.01
	Rs	acet./benz.	3.01	3.07	3.04	0.04
	ALFA	acet./benz.	2.51	2.51	2.51	0.00

Tab.A.43 col. mat. recheio irradiado 100 kGy amb. extraído
mist.2, FM 80:20, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	6.72	6.70	6.71	0.01
		acetona	8.17	8.17	8.17	0.00
		benzonitrila	9.24	9.25	9.25	0.01
		naftaleno	20.70	20.49	20.60	0.15
	wh (min)	acetona	0.51	0.50	0.51	0.01
		benzonitrila	0.63	0.61	0.62	0.01
		naftaleno	1.15	1.13	1.14	0.01
	A (cm)	naftaleno	5.75	5.85	5.80	0.07
	B (cm)	naftaleno	4.75	4.85	4.80	0.07
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	1797	1823	1810	19
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	14373	14585	14479	150
	Dm	naftaleno	2.08	2.05	2.06	0.02
	As	naftaleno	1.21	1.21	1.21	0.00
	Rs	acet./benz.	1.10	1.15	1.12	0.03
	ALFA	acet./benz.	1.74	1.74	1.74	0.00

Tab.A.44 col. mat. recheio irradiado 150 kGy amb. extraído
mist.2, FM 70:30, F=0,1 mL/min

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	7.01	7.01	7.01	0.00
		acetona	8.98	8.98	8.97	0.01
		benzonitrila	12.30	12.30	12.30	0.00
		naftaleno	43.64	44.00	43.82	0.25
	wh (min)	acetona	0.37	0.33	0.35	0.03
		benzonitrila	0.51	0.51	0.51	0.00
		naftaleno	1.77	1.77	1.77	0.00
	A (cm)	naftaleno	3.75	3.65	3.70	0.07
	B (cm)	naftaleno	4.40	4.30	4.35	0.07
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	3371	3427	3399	39
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	26966	27413	27189	316
	Dm	naftaleno	5.23	5.28	5.25	0.04
	As	naftaleno	0.85	0.85	0.85	0.00
	Rs	acet./benz.	4.44	4.68	4.56	0.17
	ALFA	acet./benz.	2.69	2.71	2.70	0.02

Tab.A.45 col. mat. recheio irradiado 150 kGy nit. extraído
mist.2, FM 70:30, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)		metanol	7.32	7.64	7.48	0.23
			acetona	9.33	9.65	9.49	0.23
			benzonitrila	12.60	13.07	12.84	0.33
			naftaleno	43.31	44.60	43.96	0.91
	wh (min)		acetona	0.39	0.43	0.41	0.03
			benzonitrila	0.55	0.63	0.59	0.06
			naftaleno	1.65	1.65	1.65	0.00
	A (cm)		naftaleno	2.00	2.10	2.05	0.07
C A L C U L A D O S	B (cm)		naftaleno	1.90	1.95	1.93	0.04
	n		naftaleno	3820	4051	3936	163
	n/m (m ⁻¹)		naftaleno	30563	32411	31487	1307
	Dm		naftaleno	4.92	5.09	5.00	0.12
	As		naftaleno	1.05	1.08	1.06	0.02
	Rs		acet./benz.	4.09	3.80	3.95	0.21
	ALFA		acet./benz.	2.63	2.47	2.55	0.11

Tab.A.46 col. mat. recheio Partisil ODS
mist.2, FM 50:50, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)		metanol	9.80	9.80	9.80	0.00
			acetona	12.01	12.01	12.01	0.00
			benzonitrila	20.87	20.67	20.77	0.14
			naftaleno	83.86	82.78	83.32	0.76
	wh (min)		acetona	0.79	0.79	0.79	0.00
			benzonitrila	1.28	1.28	1.28	0.00
			naftaleno	4.04	4.04	4.04	0.00
	A (cm)		naftaleno	1.95	1.95	1.95	0.00
C A L C U L A D O S	B (cm)		naftaleno	1.75	1.75	1.75	0.00
	n		naftaleno	2389	2328	2359	43
	n/m (m ⁻¹)		naftaleno	19113	18624	18869	346
	Dm		naftaleno	7.56	7.45	7.50	0.08
	As		naftaleno	1.11	1.11	1.11	0.00
	Rs		acet./benz.	5.04	4.92	4.98	0.08
	ALFA		acet./benz.	5.01	4.92	4.96	0.06

Tab.A.47 col. mat. recheio Partisil ODS
mist.2, FM 60:40, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	9.92	9.80	9.86	0.08
		acetona	11.54	11.54	11.54	0.00
		benzonitrila	15.63	15.58	15.63	0.00
		naftaleno	38.43	38.78	38.61	0.25
	wh (min)	acetona	0.59	0.59	0.59	0.00
		benzonitrila	0.75	0.75	0.75	0.00
		naftaleno	1.61	1.61	1.61	0.00
	A (cm)	naftaleno	2.15	2.20	2.18	0.04
		B (cm)	1.80	2.00	1.90	0.14
	C A L C U L A D O S	n	3159	3217	3188	41
		n/n (m ⁻¹)	25274	25737	25506	327
		Dm	2.87	2.91	2.89	0.02
		As	1.19	1.10	1.15	0.07
		Rs	3.59	3.59	3.59	0.00
		ALFA	3.52	3.52	3.52	0.00

Tab.A.48 col. mat. recheio Partisil ODS
mist.2, FM 70:30, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	9.82	9.82	9.82	0.00
		acetona	11.18	11.00	11.09	0.13
		benzonitrila	13.11	13.05	13.08	0.04
		naftaleno	23.37	23.30	23.34	0.05
	wh (min)	acetona	0.51	0.51	0.51	0.00
		benzonitrila	0.61	0.71	0.66	0.07
		naftaleno	0.96	0.98	0.97	0.01
	A (cm)	naftaleno	2.40	2.40	2.40	0.00
		B (cm)	2.40	2.35	2.38	0.04
	C A L C U L A D O S	n	3286	3134	3210	107
		n/n (m ⁻¹)	26289	25076	25682	858
		Dm	1.38	1.37	1.38	0.01
		As	1.00	1.02	1.01	0.02
		Rs	2.03	1.98	2.00	0.04
		ALFA	2.42	2.74	2.58	0.22

Tab.A.49 col. mat. recheio Partisil ODS
mist.3, FM 60:40, F=0,1 mL/min

PARÂMETROS COMPOSTO			CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
MEDIDAS	tR (min)	metanol	9.80	9.76	9.78	0.03
		fenol	13.50	13.46	13.48	0.03
		anilina	15.35	15.35	15.35	0.00
		naftaleno	39.06	39.17	39.11	0.08
	wh (min)	fenol	0.71	0.71	0.71	0.00
		anilina	1.26	1.26	1.26	0.00
		naftaleno	1.65	1.65	1.65	0.00
	A (cm)	fenol	0.95	0.90	0.92	0.04
		anilina	2.80	2.80	2.80	0.00
		naftaleno	2.15	2.15	2.15	0.00
	B (cm)	fenol	1.20	1.20	1.20	0.00
		anilina	0.75	0.75	0.75	0.00
		naftaleno	2.00	2.05	2.03	0.04
CALCULADOS	n	naftaleno	3107	3125	3116	12
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	24859	24899	24929	99
	Dm	naftaleno	2.99	3.00	2.99	0.01
	As	fenol	0.79	0.75	0.77	0.03
		anilina	3.73	3.73	3.73	0.00
		naftaleno	1.08	1.05	1.06	0.02
	Rs	fenol/anil.	1.11	1.13	1.12	0.02
ALFA	fenol/anil.	1.50	1.52	1.51	0.01	

Tab.A.50 col. mat. recheio Partisil ODS
mist.4, FM 60:40, F=0,1 mL/min

M E D I D O S	PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)		metanol	9.84	9.84	9.84	0.00
			acetilac.	13.35	13.39	13.37	0.03
			nitronaft.	37.05	37.20	37.13	0.11
			naftaleno	38.98	39.09	39.04	0.08
	wh (min)		acetilac.	1.77	1.81	1.79	0.03
	A (cm)		acetilac.	6.90	7.10	7.00	0.14
	B (cm)		acetilac.	1.10	1.10	1.10	0.00
C A L C U L A D O S	C						
	A	Dm	naftaleno	2.96	2.97	2.97	0.01
	L						
	C						
	U						
	L	As	acetilac.	6.27	6.45	6.36	0.13
	A						
	D						
	O						
	S	alfa	nitro/naft.	1.07	1.07	1.07	0.00

Tab.A.51 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, f=0,3 mL/min
antes da lavagem com solvente

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	3.45	3.43	3.44	0.01
		acetona	4.09	4.17	4.13	0.06
		benzonitrila	6.18	6.22	6.20	0.03
		naftaleno	21.89	21.93	21.91	0.03
	wh (min)	acetona	0.20	0.20	0.20	0.00
		benzonitrila	0.31	0.31	0.31	0.00
		naftaleno	1.06	1.06	1.06	0.00
	A (cm)	naftaleno	1.10	1.05	1.08	0.04
		B (cm)	1.40	1.40	1.40	0.00
	n	naftaleno	2365	2373	2369	6
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	18918	18987	18952	49
	Dm	acetona	0.19	0.21	0.20	0.02
		benzonitrila	0.79	0.80	0.80	0.01
		naftaleno	5.34	5.36	5.35	0.01
	As	naftaleno	0.79	0.75	0.77	0.03
	Rs	acet./benz.	4.82	4.73	4.78	0.07
	ALFA	acet./benz.	4.27	3.85	4.06	0.30

Tab.A.52 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 250 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	3.62	3.62	3.62	0.00
		acetona	4.33	4.37	4.35	0.03
		benzonitrila	6.34	6.42	6.38	0.06
		naftaleno	22.60	22.64	22.62	0.03
	wh (min)	acetona	0.16	0.16	0.16	0.00
		benzonitrila	0.31	0.31	0.31	0.00
		naftaleno	1.06	1.02	1.04	0.03
	A (cm)	naftaleno	1.00	1.05	1.03	0.04
		B (cm)	1.45	1.40	1.43	0.04
	n	naftaleno	2521	2732	2626	149
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	20165	21855	21010	1195
	Dm	acetona	0.20	0.21	0.20	0.01
		benzonitrila	0.75	0.77	0.76	0.02
		naftaleno	5.24	5.25	5.25	0.01
	As	naftaleno	0.69	0.75	0.72	0.04
	Rs	acet./benz.	5.03	5.13	5.08	0.07
	ALFA	acet./benz.	3.83	3.73	3.78	0.07

Tab.A.53 col. mat. echeio irradiado 70 kGy amb.
mist.2, FM50:50, F=0,3 mL/min
lavada 500 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol acetona benzonitrila naftaleno	3.43 4.13 6.06 21.14	3.46 4.17 6.06 21.06	3.45 4.15 6.06 21.10	0.02 0.03 0.00 0.06
A L C U L A D O S	wh (min)	acetona benzonitrila naftaleno	0.16 0.31 0.98	0.20 0.31 0.94	0.18 0.31 0.96	0.03 0.00 0.03
	A (cm)	naftaleno	1.00	1.05	1.03	0.04
C A L C U L A D O S	B (cm)	naftaleno	1.35	1.30	1.33	0.04
	n	naftaleno	2580	2783	2682	144
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	20642	22267	21454	1149
	Dm	acetona benzonitrila naftaleno	0.20 0.77 5.16	0.22 0.77 5.14	0.21 0.77 5.15	0.01 0.00 0.02
C A L C U L A D O S	As	naftaleno	0.74	0.81	0.77	0.05
	Rs	acet./benz.	4.83	4.36	4.60	0.33
C A L C U L A D O S	ALFA	acet./benz.	3.76	3.55	3.66	0.14

Tab.A.54 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 1000 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol acetona benzonitrila naftaleno	3.66 4.33 6.24 22.32	3.62 4.35 6.32 22.54	3.64 4.34 6.28 22.43	0.03 0.01 0.06 0.16
A L C U L A D O S	wh (min)	acetona benzonitrila naftaleno	0.20 0.31 1.02	0.18 0.35 1.04	0.19 0.33 1.03	0.01 0.03 0.01
	A (cm)	naftaleno	1.10	1.05	1.08	0.04
C A L C U L A D O S	B (cm)	naftaleno	1.35	1.40	1.38	0.04
	n	naftaleno	2655	2605	2630	36
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	21241	20837	21039	286
	Dm	acetona benzonitrila naftaleno	0.18 0.70 5.10	0.19 0.73 5.16	0.19 0.72 5.13	0.00 0.02 0.04
C A L C U L A D O S	As	naftaleno	0.81	0.75	0.78	0.05
	Rs	acet./benz.	4.41	4.37	4.39	0.02
C A L C U L A D O S	ALFA	acet./benz.	3.85	3.86	3.85	0.00

Tab.A.55 col. mat. recheio 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 1500 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)		metanol	3.35	3.37	3.36	0.01
			acetona	4.04	4.04	4.04	0.00
			benzonitrila	5.91	5.91	5.91	0.00
			naftaleno	21.12	21.16	21.14	0.03
	wh (min)		acetona	0.18	0.18	0.18	0.00
			benzonitrila	0.31	0.31	0.31	0.00
			naftaleno	1.00	1.00	1.00	0.00
	A (cm)		naftaleno	1.05	1.10	1.08	0.04
			B (cm)	1.30	1.30	1.30	0.00
	n		naftaleno	2473	2483	2478	7
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)		naftaleno	19787	19862	19824	53
			acetona	0.21	0.21	0.21	0.00
			benzonitrila	0.76	0.76	0.76	0.00
	Dm		naftaleno	5.30	5.32	5.31	0.01
			As	0.81	0.85	0.83	0.03
	Rs		acet./benz.	4.49	4.49	4.49	0.00
			ALFA	3.71	3.71	3.71	0.00

Tab.A.56 col. mat. recheio, irradiado 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 2000 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS		COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)		metanol	3.35	3.37	3.36	0.01
			acetona	4.02	4.02	4.02	0.00
			benzonitrila	5.79	5.79	5.79	0.00
			naftaleno	20.45	20.49	20.47	0.03
	wh (min)		acetona	0.18	0.18	0.18	0.00
			benzonitrila	0.31	0.31	0.31	0.00
			naftaleno	0.94	0.94	0.94	0.00
	A (cm)		naftaleno	1.00	1.00	1.00	0.00
			B (cm)	1.20	1.25	1.23	0.04
	n		naftaleno	2624	2635	2630	7
C A L C U L A D O S	n/m (m ⁻¹)		naftaleno	20995	21078	21036	58
			acetona	0.20	0.20	0.20	0.00
			benzonitrila	0.73	0.73	0.73	0.00
	Dm		naftaleno	5.10	5.12	5.11	0.01
			As	0.83	0.80	0.82	0.02
	Rs		acet./benz.	4.25	4.25	4.25	0.00
			ALFA	3.64	3.64	3.64	0.00

Tab.A.57 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 2500 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol acetona benzonitrila naftaleno	3.39 4.04 5.81 20.51	3.37 4.04 5.83 20.53	3.38 4.04 5.82 20.52	0.01 0.00 0.01 0.01
	wh (min)	acetona benzonitrila naftaleno	0.18 0.31 0.96	0.18 0.31 0.96	0.18 0.31 0.96	0.00 0.00 0.00
	A (cm)	naftaleno	1.05	1.00	1.03	0.04
	B (cm)	naftaleno	1.25	1.25	1.25	0.00
	n	naftaleno	2531	2536	2533	3
C A L C U L A D O S	n/n (μ^{-1})	naftaleno	20248	20287	20268	28
	Dm	acetona benzonitrila naftaleno	0.19 0.71 5.05	0.19 0.72 5.06	0.19 0.72 5.05	0.00 0.00 0.00
	As	naftaleno	0.84	0.80	0.82	0.03
	Rs	acet./benz.	4.25	4.30	4.28	0.03
	ALFA	acet./benz.	3.72	3.75	3.74	0.02

Tab.A.58 col. mat. recheio 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 3000 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol acetona benzonitrila naftaleno	3.41 4.04 5.79 20.63	3.37 4.04 5.83 20.77	3.39 4.04 5.81 20.70	0.03 0.00 0.03 0.10
	wh (min)	acetona benzonitrila naftaleno	0.18 0.30 0.94	0.18 0.31 0.96	0.18 0.31 0.95	0.00 0.01 0.01
	A (cm)	naftaleno	1.00	1.00	1.00	0.00
	B (cm)	naftaleno	1.25	1.30	1.28	0.04
	n	naftaleno	2671	2596	2633	53
C A L C U L A D O S	n/n (μ^{-1})	naftaleno	21367	20765	21066	426
	Dm	acetona benzonitrila naftaleno	0.18 0.70 5.05	0.18 0.71 5.09	0.18 0.70 5.07	0.00 0.01 0.03
	As	naftaleno	0.80	0.77	0.78	0.02
	Rs	acet./benz.	4.29	4.30	4.30	0.01
	ALFA	acet./benz.	3.78	3.84	3.81	0.04

Tab.A.59 col. mat. recheio 70 kGy amb.
mist.2, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 3500 vezes o volume da coluna

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	3.35	3.35	3.35	0.00
		acetona	4.00	4.02	4.01	0.01
		benzonitrila	5.83	5.91	5.87	0.06
		naftaleno	21.87	22.11	21.99	0.17
	wh (min)	acetona	0.18	0.18	0.18	0.00
		benzonitrila	0.31	0.31	0.31	0.00
		naftaleno	1.02	1.04	1.03	0.01
	A (cm)	naftaleno	1.10	1.10	1.10	0.00
	B (cm)	naftaleno	1.40	1.40	1.40	0.00
	n	naftaleno	2549	2506	2528	30
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	20393	20049	20221	243
	Dm	acetona	0.19	0.20	0.20	0.00
		benzonitrila	0.74	0.76	0.75	0.02
		naftaleno	5.53	5.60	5.56	0.05
	As	naftaleno	0.79	0.79	0.79	0.00
	Rs	acet./benz.	4.40	4.54	4.47	0.10
	ALFA	acet./benz.	3.82	3.82	3.82	0.00

Tab.A.60 col. mat. recheio irradiado 70kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,3 mL/min
antes da lavagem com solvente

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	3.42	3.44	3.43	0.01
		anilina	5.21	5.22	5.22	0.01
		nitronaft.	19.09	18.87	18.98	0.16
		naftaleno	21.89	21.70	21.80	0.13
	wh (min)	anilina	0.28	0.29	0.29	0.01
		nitronaft.	0.94	0.91	0.93	0.02
		naftaleno	1.02	1.02	1.02	0.00
	A (cm)	anilina	1.60	1.60	1.30	0.00
		nitronaft.	1.05	1.00	1.03	0.04
	B (cm)	naftaleno	1.10	1.10	1.10	0.00
	n	anilina	1.15	1.15	1.15	0.00
		nitronaft.	1.25	1.20	1.23	0.04
C A L C U L A D O S	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	2554	2510	2532	31
	Dm	naftaleno	20431	20078	20254	250
	As	naftaleno	5.40	5.35	5.37	0.04
		anilina	1.39	1.39	1.39	0.00
		nitronaft.	0.84	0.83	0.84	0.00
	Rs	naftaleno	0.79	0.81	0.80	0.02
S	alfa	nitro/naft.	1.68	1.73	1.70	0.03
	alfa	nitro/naft.	1.18	1.18	1.18	0.00

Tab.A.61 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 250 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	3.60	3.66	3.63	0.04
		anilina	5.46	5.53	5.50	0.05
		nitronaft.	19.26	19.50	19.38	0.17
		naftaleno	22.53	22.81	22.67	0.20
	wh (min)	anilina	0.29	0.28	0.29	0.01
		nitronaft.	0.91	0.91	0.91	0.00
		naftaleno	1.02	1.06	1.04	0.03
	A (cm)	anilina	1.55	1.55	1.28	0.00
		nitronaft.	0.95	1.00	0.98	0.04
		naftaleno	1.10	1.10	1.10	0.00
C A L C U L A D O S	B (cm)	anilina	1.35	1.35	1.35	0.00
		nitronaft.	1.20	1.20	1.20	0.00
		naftaleno	1.40	1.35	1.38	0.04
	n	naftaleno	2705	2568	2637	97
	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	21643	20541	21092	779
	Dm	naftaleno	5.26	5.34	5.30	0.05
	As	anilina	1.15	1.15	1.15	0.00
		nitronaft.	0.79	0.83	0.81	0.03
		naftaleno	0.79	0.81	0.80	0.02
	Rs	nitro/naft.	1.99	1.98	1.99	0.01
	alfa	nitro/naft.	1.21	1.21	1.21	0.00

Tab.A.62 col. mat. recheio 70 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 500 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	3.48	3.43	3.46	0.04
		anilina	5.14	5.14	5.14	0.00
		nitronaft.	18.18	18.24	18.21	0.04
		naftaleno	21.01	21.11	21.06	0.07
	wh (min)	anilina	0.28	0.27	0.28	0.01
		nitronaft.	0.87	0.91	0.89	0.03
		naftaleno	0.98	1.02	1.00	0.03
	A (cm)	anilina	1.50	1.50	1.25	0.00
		nitronaft.	1.00	1.00	1.00	0.00
		naftaleno	1.05	1.15	1.10	0.07
C A L C U L A D O S	B (cm)	anilina	1.25	1.25	1.25	0.00
		nitronaft.	1.15	1.20	1.17	0.04
		naftaleno	1.30	1.30	1.30	0.00
	n	naftaleno	2549	2375	2462	123
	n/n (m ⁻¹)	naftaleno	20389	19001	19695	982
	Dm	naftaleno	5.04	5.07	5.05	0.02
	As	anilina	1.20	1.20	1.20	0.00
		nitronaft.	0.87	0.83	0.85	0.03
		naftaleno	0.81	0.88	0.85	0.05
	Rs	nitro/naft.	1.80	1.75	1.78	0.04
	alfa	nitro/naft.	1.19	1.19	1.19	0.00

Tab.A.63 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 1000 vezes o volume da coluna

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	3.63	3.70	3.67	0.05
		anilina	5.50	5.58	5.54	0.06
		nitronaft.	18.78	19.10	18.94	0.23
		naftaleno	22.52	22.92	22.72	0.28
	wh (min)	anilina	0.30	0.31	0.31	0.01
		nitronaft.	0.91	0.94	0.93	0.02
		naftaleno	1.02	1.06	1.04	0.03
	A (cm)	anilina	1.80	1.75	1.40	0.04
		nitronaft.	0.95	1.00	0.98	0.04
		naftaleno	1.10	1.10	1.10	0.00
	B (cm)	anilina	1.20	1.35	1.28	0.11
		nitronaft.	1.25	1.30	1.28	0.04
		naftaleno	1.40	1.40	1.40	0.00
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2703	2593	2648	78
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	21624	20740	21182	625
	Dm	naftaleno	5.20	5.31	5.26	0.08
	As	anilina	1.50	1.30	1.40	0.14
		nitronaft.	0.76	0.77	0.76	0.01
		naftaleno	0.79	0.79	0.79	0.00
	Rs	nitro/naft	2.28	2.25	2.26	0.02
	alfa	nitro/naft	1.25	1.25	1.25	0.00

Tab.A.64 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 1500 vezes o volume da coluna

	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
M E D I D O S	tR (min)	metanol	3.36	3.36	3.36	0.00
		anilina	5.04	5.06	5.05	0.01
		nitronaft.	17.84	17.76	17.80	0.06
		naftaleno	20.88	20.83	20.86	0.04
	wh (min)	anilina	0.27	0.27	0.27	0.00
		nitronaft.	0.87	0.87	0.87	0.00
		naftaleno	0.98	0.98	0.98	0.00
	A (cm)	anilina	1.80	1.50	1.28	0.07
		nitronaft.	0.95	0.95	0.95	0.00
		naftaleno	1.00	1.05	1.03	0.04
	B (cm)	anilina	1.20	1.15	1.17	0.04
		nitronaft.	1.10	1.15	1.13	0.04
		naftaleno	1.30	1.25	1.28	0.04
C A L C U L A D O S	n	naftaleno	2517	2505	2511	9
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	20137	20041	20089	68
	Dm	naftaleno	5.21	5.20	5.21	0.01
	As	anilina	1.33	1.30	1.32	0.02
		nitronaft.	0.86	0.83	0.84	0.03
		naftaleno	0.77	0.84	0.80	0.05
	Rs	nitro/naft.	1.93	1.95	1.94	0.01
	alfa	nitro/naft.	1.21	1.21	1.21	0.00

Tab.A.65 col. mat. recheio 70 kGy amb.
mists.5, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 2000 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	3.37	3.41	3.39	0.03
		anilina	5.00	5.03	5.02	0.02
		nitronaft.	16.95	17.19	17.07	0.17
		naftaleno	20.30	20.42	20.36	0.08
	wh (min)	anilina	0.27	0.27	0.27	0.00
		nitronaft.	0.87	0.83	0.85	0.03
		naftaleno	0.94	0.94	0.94	0.00
	A (cm)	anilina	1.55	1.55	1.25	0.00
		nitronaft.	0.95	0.95	0.95	0.00
		naftaleno	1.05	1.05	1.05	0.00
C A L C U L A D O S	B (cm)	anilina	1.05	1.05	1.05	0.00
		nitronaft.	1.05	1.05	1.05	0.00
		naftaleno	1.20	1.20	1.20	0.00
	n	naftaleno	2586	2617	2601	22
		n/m (m ⁻¹)	20688	20934	20811	173
		Dm	5.02	5.06	5.04	0.03
	As	anilina	1.48	1.48	1.48	0.00
		nitronaft.	0.90	0.90	0.90	0.00
		naftaleno	0.87	0.87	0.87	0.00
	Rs	nitro/naft.	2.18	2.15	2.16	0.02
		alfa nitro/naft.	1.25	1.23	1.24	0.01

Tab.A.66 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,3mL/min
lavada 2500 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS COMPOSTO		CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	3.35	3.39	3.37	0.03
		anilina	5.14	5.11	5.13	0.02
		nitronaft.	17.62	17.63	17.63	0.01
		naftaleno	20.41	20.42	20.42	0.01
	wh (min)	anilina	0.28	0.29	0.29	0.01
		nitronaft.	0.87	0.87	0.87	0.00
		naftaleno	0.94	0.94	0.94	0.00
	A (cm)	anilina	1.50	1.45	1.48	0.04
		nitronaft.	0.95	0.95	0.95	0.00
		naftaleno	1.10	1.05	1.08	0.04
C A L C U L A D O S	B (cm)	anilina	1.00	0.95	0.98	0.04
		nitronaft.	1.10	1.10	1.10	0.00
		naftaleno	1.20	1.25	1.23	0.04
	n	naftaleno	2614	2617	2615	2
		n/m (m ⁻¹)	20913	20934	20924	14
		Dm	5.09	5.10	5.09	0.00
	As	anilina	1.50	1.50	1.50	0.00
		nitronaft.	0.86	0.86	0.86	0.00
		naftaleno	0.92	0.84	0.88	0.05
	Rs	nitro/naft.	1.81	1.81	1.81	0.00
		alfa nitro/naft.	1.20	1.20	1.20	0.00

Tab.A.67 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 3000 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	3.37	3.37	3.37	0.00
		anilina	5.06	5.03	5.05	0.02
		nitronaft.	17.63	17.57	17.60	0.04
		naftaleno	20.62	20.60	20.61	0.01
	wh (min)	anilina	0.27	0.27	0.27	0.00
		nitronaft.	0.87	0.83	0.85	0.03
		naftaleno	0.94	0.94	0.94	0.00
	A (cm)	anilina	1.50	1.55	1.23	0.04
		nitronaft.	0.95	0.95	0.95	0.00
		naftaleno	1.05	1.00	1.03	0.04
C A L C U L A D O S	B (cm)	anilina	1.15	1.15	1.15	0.00
		nitronaft.	1.10	1.10	1.10	0.00
		naftaleno	1.25	1.25	1.25	0.00
	n	naftaleno	2668	2663	2666	4
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	21346	21304	21325	29
	Dm	naftaleno	5.12	5.11	5.12	0.00
	As	anilina	1.30	1.35	1.33	0.03
		nitronaft.	0.86	0.86	0.86	0.00
		naftaleno	0.84	0.80	0.82	0.03
	Rs	nitro/naft.	1.94	2.01	1.98	0.05
	alfa	nitro/naft.	1.21	1.21	1.21	0.00

Tab.A.68 col. mat. recheio irradiado 70 kGy amb.
mist.5, FM 50:50, F=0,3 mL/min
lavada 3500 vezes o volume da coluna

M E D I D O S	PARÂMETROS	COMPOSTO	CROM.1	CROM.2	MEDIA	DESVIO
	tR (min)	metanol	3.35	3.35	3.35	0.00
		anilina	5.11	5.12	5.11	0.01
		nitronaft.	18.67	18.70	18.69	0.02
		naftaleno	21.98	22.01	22.00	0.02
	wh (min)	anilina	0.29	0.29	0.29	0.00
		nitronaft.	0.91	0.91	0.91	0.00
		naftaleno	1.02	1.02	1.02	0.00
	A (cm)	anilina	1.75	1.70	1.38	0.04
		nitronaft.	1.05	1.00	1.03	0.04
		naftaleno	1.15	1.10	1.13	0.04
C A L C U L A D O S	B (cm)	anilina	1.15	1.20	1.17	0.04
		nitronaft.	1.25	1.25	1.25	0.00
		naftaleno	1.35	1.40	1.38	0.04
	n	naftaleno	2575	2582	2578	5
	n/m (m ⁻¹)	naftaleno	20599	20655	20627	40
	Dm	naftaleno	5.56	5.57	5.57	0.01
	As	anilina	1.52	1.42	1.47	0.07
		nitronaft.	0.84	0.80	0.82	0.03
		naftaleno	0.85	0.79	0.82	0.05
	Rs	nitro/naft.	2.02	2.02	2.02	0.00
	alfa	nitro/naft.	1.22	1.22	1.22	0.00