

i

**Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química**

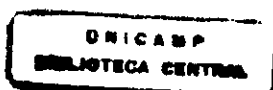


**Preparação de Fases Estacionárias Para CLAE a
Partir de Poli(metiloctilsiloxano) Sobre a Sílica
Titanizada**

**Rosely Barbosa Silva
Tese de Doutorado**

Orientação : Prof^a Dr^a Carol H. Collins

Julho - 2001



Ao meu pai e a meu irmão que foram à frente, no caminho. . .

Foi muito bom tê-los em minha vida. E, nesta vida, nada que seja bom, é realmente perdido. Agora fazem parte de mim, tornaram-se parte de meu caráter. Assim, uma parte de vocês me acompanha sempre. E meu amor estará sempre com vocês.

Agradecimentos

- A Deus, cuja presença sinto em todos os momentos da vida através das pessoas que encontro em minha passagem por aqui.
- A minha família: Hércio e Jéssica.
- À Prof^a Dr^a Carol H. Collins antes de tudo pelo carinho, amizade e solidariedade sempre presentes neste período de convivência e quanto à sua orientação, pela presença, paciência e respeito a individualidade de seus orientandos. Será uma amiga sempre lembrada como um exemplo de convivência e profissionalismo.
- À Prof^a Dr^a Isabel C. S. F. Jardim que por suas "passagens" pelo laboratório sempre deixou apoio científico e por manter a porta de sua sala sempre aberta com ouvidos atentos e ombros enormes para ouvir os nossos desabafos e sempre ter uma palavra amiga.
- Ao Prof. Dr. Kenneth E. Collins pela agradável convivência e colaboração na redação dos artigos submetidos a publicação durante esse trabalho.
- Ao Prof. Yoshitaka Gushikem pela sua imprescindível orientação durante a síntese da sílica titanizada na fase inicial desse trabalho.
- Ao Joãozinho pelos risos e auxílio no polimento das colunas e à Priscila, pela agradável renovação do laboratório. Bem vinda !
- À Sonia C. de Castro antes de tudo pela solidariedade com que sempre me recebeu e incentivou meu trabalho e pelo exemplo que nos deu ao enfrentar com tanta serenidade sua luta pela vida e pela forma serena com que se foi;
- Às "Mulheres" do laboratório: Kátia, Gláucia, Tânia, Adriana, Daniela, Fabiana, Dânia, Priscila, Carla, Zahra, Sonia, Josie, Lúcia, Andréia, e Letícia.

- Aos homens presentes para manter o equilíbrio: Lúcio, Ricardo, Pezzin, Zuin, Edivan, André, Dênisson, Maurício e Marcelo.
- Aos amigos do "lado de lá": Hêlvio, Lílian, Akira, Cláudia, Ana, Liliane, Cris, Toshio, Zeca, Neusa, Luíza, Reni e o Antonio.
- Ao Valter pela confecção das colunas e apoio técnico no sistema de enchimento de colunas.
- Ao Iveraldo e Eliana pela simpatia, execução dos desenhos e impressão dos painéis para todos os congressos de que participei.
- À IBRAS-CBO e Rosangela Bassi pela irradiação das fases estacionárias utilizadas neste trabalho.
- Aos funcionários do Instituto de Química que ajudaram no decorrer desse trabalho através de suas análises.
- À FAPESP pela bolsa e pelo apoio financeiro ao laboratório de Pesquisas em Cromatografia Líquida.
- Ao Instituto de Química pela oportunidade.
- A todas as pessoas que direta ou indiretamente, contribuíram para esse trabalho,

Obrigada.

Preparação de Fases Estacionárias para CLAE a Partir de Poli(metiloctilsiloxano) Sobre a Sílica Titanizada

Autora: Rosely Barbosa Silva

Orientadora: Prof^a Dr^a Carol H. Collins

Este trabalho investigou o processo de modificação química da superfície da sílica pelo óxido de titânio, seguido da sorção e imobilização do poli(metiloctilsiloxano) para uso como fase estacionária líquida em cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa para aplicações com fase móveis alcalinas.

O suporte cromatográfico de sílica titanizada foi obtido através da reação química da sílica porosa (10 μm) com dois reagentes diferentes: tetrabutóxido e tetracloreto de titânio. Após, a deposição da camada de poli(metiloctilsiloxano) por evaporação de solvente e imobilização por radiação gama foi feita a extração do excesso de polímero com diclorometano. O suporte e as fases estacionárias foram então caracterizadas por fluorescência de raios-X, espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS), análise termogravimétrica (TGA), análise elementar, espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética nuclear de ^{29}Si e área superficial específica.

Nas colunas cromatográficas, as fases estacionárias foram avaliadas com 50% em carregamento inicial de PMOS, 120 kGy de radiação gama para imobilização seguida da extração e utilizadas com 0,3 mL min⁻¹ de

vazão da fase móvel metanol:água em composições que separassem eficientemente as amostras padrões utilizadas.

Os testes de estabilidade da fase estacionária com até 10.000 vezes o volume da coluna usando MeOH:H₂O, nos pH 7, 9, 12 e 13 (ajustados com NaOH 0,01 mol L⁻¹) mostraram que a radiação gama imobilizou e estabilizou a fase estacionária líquida na sílica titanizada enquanto a extração melhorou a eficiência e permitiu que se obtivessem melhores valores de assimetria para os picos dos compostos analisados com essas colunas cromatográficas. As misturas de amostras básicas foram separadas tanto usando fases móveis neutras como alcalinas, demonstrando assim a perspectiva de aplicação para desse tipo de fase estacionária.

Preparation of Stationary Phases for HPLC Using Poly(methyloctylsiloxane) Sorbed onto Titanium Modified-Silica

Author: Rosely Barbosa Silva

Supervisor: Prof^a Dr^a Carol H. Collins

This work investigated the process modification of a silica surface by titanium oxide followed by the sorption and immobilization of poly(methyloctylsiloxane) (PMOS) for use as stationary phase in high performance liquid chromatography, with special applications in alkaline mobile phases.

The chromatographic support of titanized-silica was obtained by the chemical reaction of 10 μm porous silica with two different reagents: titanium tetrabutoxide or titanium tetrachloride. After the deposition of polymer by evaporation and immobilization using gamma radiation, the excess of liquid stationary phase was extracted with CH_2Cl_2 . The support and the stationary phases were characterized by X-ray fluorescence, X-ray photoelectron spectroscopy, thermogravimetric analysis, elemental analysis for carbon, infrared spectroscopy, density measurements, ^{29}Si nuclear magnetic resonance and specific area. The chromatographic columns were optimized with stationary phases having initial loading of 50% PMOS followed by gamma radiation for immobilization and extraction with dichloromethane utilized at 0.3 mL min^{-1} with $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ as mobile phase.

Tests of stationary phase stability up to 10000 the column volumes using $\text{MeOH:NaOH}_{(\text{aq})}$ at the pH 7, 9, 12 and 13 showed that the gamma radiation stabilized the liquid stationary phase onto the

chromatographic support. The extraction with dichloromethane after the irradiation led to better values of asymmetry and efficiency.

The basic solutes present in the various samples were separated in either neutral or basic mobile phases, indicating the perspective that a stationary phases based on titanium modified silica may be used for separations where alkaline mobile phases are required.

Rosely Barbosa Silva

1. FORMAÇÃO ACADÊMICA

- ✱ Mestrado em Química Analítica - Instituto de Física e Química de São Carlos - USP, de 1991 a 1993.
- ✱ Licenciatura e Bacharelado em Química - Universidade Estadual de Londrina - PR, no período de 1987 a 1990.

2. ARTIGOS PUBLICADOS

- ✱ "Synthesis and solid-state NMR Investigations of Radiation-Immobilized Polysiloxanes on Bare, Titanium- and Zirconium- Grafted Silicas"
Stefan Bachmann, Lúcio F. C. Melo, Rosely B. Silva, Tânia A. Anazawa, Isabel C.S.F. Jardim, Kenneth E. Collins, Carol H. Collins and Klaus Albert
Chemistry and Materials 13(2001)1874-1879.
- ✱ "Synthesis, Characterization and Chromatographic Evaluation of Titanium Tetrabutoxide Modified-Silica as a Support for HPLC-RP Separations in Alkaline Mobile Phases"
Rosely Barbosa Silva, Yoshitaka Gushikem e Carol H. Collins
Journal of Separation Science, 24(2001)49-54.
- ✱ "Effects in High Performance Liquid Chromatography of a High pH in the Mobile Phase on Poly(methyloctylsiloxane) Immobilized by γ -radiation on Titanium-Grafted Silica"
Rosely Barbosa Silva, Kenneth E. Collins e Carol H. Collins
Journal of Chromatography A, 869 (2000) 137-141.
- ✱ "Chromatographic Evaluation of Radiation-immobilized Poly(methyloctylsiloxane) Stationary Phase on Titanium-grafted Silica"
Rosely Barbosa Silva e Carol H. Collins
Journal of Chromatography A, 845 (1999) 417-422
- ✱ "Dipeptide from the roots of Zeyhera-Digitalis"
Dalva T. Ferreira, Rosely B. Silva, AB de Oliveira, M Isobe e R Braz

Journal of the Brazilian Chemical Society, 6(1995) 323-326.

- ✎ "Determination of Barium in Waters by Tungsten Coil Electrothermal Atomic-Absorption Spectrometry"
Márcia M. Silva, Rosely B. Silva, Francisco J. Krug, Joaquim A. Nobrega e Harald Berndt
Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 9(1994)861-865.

3. CURSOS

- ✎ High Performance Liquid Chromatography: General Technical Aspects and Applications in the Pharmaceutical Industry - 3rd Congress of Pharmaceutical Sciences , CIFARP 2001 - Águas de Lindóia -SP.
- ✎ The Mass Spectrometry as Detector in Chromatography (CG-MS; LC/MS) - VII Congress American on Chromatography and Related Techniques - Colacro.
- ✎ Microextração em Fase Sólida - Universidade Estadual de Campinas - SP
- ✎ Curso Avançado de Cromatografia Líquida (HPLC)
Waters - São Paulo
- ✎ Basics of Cation and Anion Determinations by Spectroscopy Methods
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro
Second Symposium on atomic absorption spectrometry - RJ
- ✎ Determination of Trace and Ultratrace Levels of Elements
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro
Second Symposium on atomic absorption spectrometry - RJ

ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	xix
ÍNDICE DE TABELAS	xxiv
 I. INTRODUÇÃO	 01
I.1. A Sílica	01
I.2. Cromatografia Líquida com Fases Quimicamente Ligadas à Sílica	04
I.3. Cromatografia Líquido-Líquido usando Sílica como Suporte	05
I.4. A Modificação da Superfície da Sílica	07
I.5. Óxidos Metálicos como Suporte em CLAE	09
I.6. Avaliação de Desempenho das Colunas Cromatográficas	26
I.7. Radiação Ionizante - Radiação Gama	32
 II. OBJETIVOS	 38
 III. PARTE EXPERIMENTAL	 40
III.1. Equipamentos	40
III.2. Material	41
III.2.1. Reagentes	41
III.2.2 Gases	42
III.2.3. Suporte Cromatográfico	42
III.2.4. Fase Estacionária Líquida	42
III.2.5. Confecção das Colunas Cromatográficas	43
III.3. Obtenção do Suporte Cromatográfico	44

ÍNDICE

xvi

III.3.1. Sílica Titanizada a partir do Tetrabutóxido de Titânio	44
III.3.2. Sílica Titanizada a partir do Tetracloreto de Titânio	44
III.3.3. Preparação das Fases Estacionárias Sorvidas	45
III.3.4. Fase Estacionária Submetida à Irradiação Gama	45
III.4. Avaliação da Fase Estacionária	47
III.4.1. Testes Físicos	47
III.4.1.1. Diâmetro Médio (D_p) e Volume Específico (V_p) dos Poros	
III.4.1.2. Densidade	47
III.4.1.3. Análise Termogravimétrica	47
III.4.1.4. Medidas de Área Superficial Específica	48
III.4.1.5. Espectroscopia no Infravermelho	48
III.4.1.6. Fluorescência de Raios-X	48
III.4.1.7. Espectroscopia Fotoeletrônica de Excitação por Raios-X (XPS)	49
III.4.1.8. Cromatografia por Permeação em Gel	49
III.4.1.9. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear ..	51
III.4.2. Testes Químicos	51
III.4.2.1. Análise Elementar	51
III.4.2.2. Extração por Solventes	52
III.4.2.3. Determinação da Concentração dos Grupos Hidroxilas	53
III.4.3. Testes Cromatográficos	54
III.4.3.1 Bomba de Enchimento das Colunas Cromatográficas ...	54

III.4.3.2. Enchimento das Colunas Cromatográficas.....	55
III.4.3.3. Condicionamento das Colunas Cromatográficas.....	57
III.4.3.4. Avaliação Das Colunas Cromatográficas	58
III.4.3.4.1. Cálculos dos Parâmetros Cromatográficos	58
III.4.3.4.2. Teste com Misturas Básicas	58
III.4.3.4.3. Determinação da Vazão Através da Curva de van Deemter	59
III.4.3.4.4. Teor de PMOS Lixiviado Durante Enchimento	59
III.4.3.4.5. Avaliação Preliminar dos Parâmetros Cromatográficos das Fases Estacionárias Submetidas a Irradiação Gama	60
III.4.3.4.6. Estabilidade Química da Fase Estacionária Imobilizada.	61
III.4.3.4.7. Armazenamento de Colunas	62
IV. RESULTADOS E DISCUSSÕES	63
IV.1. Síntese do Suporte Cromatográfico	63
IV.2. Testes Físicos	63
IV.2.1. Diâmetro Médio (D_p) e Volume Específico (V_p) dos Poros	63
IV.2.2. Densidade	64
IV.2.3. Análise Termogravimétrica	64
IV.2.4. Medidas de Área Superficial Específica	66
IV.2.5. Espectroscopia no Infravermelho	68

IV.2.6. Fluorescência de Raios-X	71
IV.2.7. Espectroscopia Fotoeletrônica de Excitação por Raios-X (XPS)	71
IV.2.8. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)	73
IV.2.9. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear	76
IV.3. Testes Químicos	79
IV.3.1. Análise Elementar	79
IV.3.2. Extração por Solventes	80
IV.3.3. Determinação da Concentração dos Grupos Hidroxilas	81
IV.4. Testes Cromatográficos	81
IV.4.1. Parâmetros Cromatográficos das Fases Estacionárias Submetidas a Irradiação Gama	81
IV.4.2. Otimização da Dose de Radiação e do Solvente de Suspensão .	86
IV.4.3. Estabilidade Química em Fases Móveis Neutra e Alcalina	90
IV.4.4. Teor de Titânio e de PMOS Após Teste de Estabilidade Química	110
IV.4.5. Armazenamento das Colunas Cromatográficas	110
IV.4.6. Teste com Mistura Básica	111
V. CONCLUSÕES	118
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	120

LISTA DE FIGURAS

xix

1. Os diferentes tipos de hidroxila na superfície de sílica	02
2. Cromatograma com as medidas relacionadas ao cálculo dos parâmetros cromatográficos	28
3. Medidas para cálculo do fator de assimetria	31
4. Curva da Equação de van Deemter	32
5. Esquema representando (A) efeito fotoelétrico, (B) efeito Compton e (C) Formação de pares	35
6. Esquema de decaimento do ^{60}Co por emissão de partículas beta (β). As flechas verticais representam os 4 raios gama (γ) emitidos pelo ^{60}Ni nos seus estados excitados	36
7. Representação esquemática do irradiador de ^{60}Co	46
8. Distribuição das massas molares estimadas em CPG	50
9. Sistema utilizado na extração por solventes	52
10. Esquema de uma coluna cromatográfica	54
11. Esquema do (A) reservatório de suspensão e (B) bomba de enchimento	56
12. Curvas termogravimétricas para SiTB (A) e SiTCl (B)	65
13. Relação entre a área superficial e a massa específica do PMOS	67
14. Espectros no Infravermelho para o suporte obtido a partir do tetrabutóxido de titânio (SiTB). (A) PMOS; (B) sílica nua; (C) sílica titanizada; (D) suporte + 10% PMOS; (E) suporte + 20% PMOS; (F) suporte + 30% PMOS; (G) suporte + 40% PMOS; (H) suporte + 50% PMOS	69
15. Espectros no infravermelho para o suporte modificado a partir de TiCl_4 (SiTCl). (a) PMOS; (b) sílica nua; (c) sílica titanizada; (d) suporte + 10%	

PMOS; (e) suporte + 20% PMOS; (f) suporte + 30% PMOS; (g) suporte + 40% PMOS; (h) suporte + 50% PMOS	70
16. Espectros de XPS da sílica titanizada	73
17. Cromatogramas do PMOS. Coluna Ultrastyrigel 7,8 x 300 mm. Condições Cromatográficas: fase móvel: tolueno; vazão: 1,0 mL min ⁻¹ ; Temperatura da coluna e detector (índice de refração): 40°C	74
18. Cromatograma de permeação em gel do PMOS lixiviado do SiTB como suporte (A) não irradiado e (B) irradiado a 120 kGy	75
19. Espectros de ²⁹ Si CP-MAS-NMR do (A) suporte de sílica titanizada (SiTCl), (B) SiTCl + 50% inicial PMOS sorvido e (C) SiTCl + 50% inicial PMOS imobilizado	77
20. Espectros de ²⁹ Si CP-MAS-NMR do (A) suporte de sílica titanizada (SiTB), (B) SiTB + 50% inicial PMOS sorvido e (C) SiTB + 50% inicial PMOS imobilizado	78
21. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com sílica titanizada (SiTCl)/50% PMOS inicial, imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel neutra	92
22. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com sílica titanizada (SiTCl)/50% PMOS inicial, imobilizado com 120 kGy utilizando fase móvel básica (pH = 9,0)	93
23. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com sílica titanizada (SiTCl)/50% PMOS inicial, imobilizado com	

- 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 12,0) 94
24. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com sílica titanizada (SiTCl)/50% PMOS inicial, imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 13,0) 95
25. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com sílica titanizada (SiTB)/50% PMOS inicial, imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel neutra (pH 7,0) 96
26. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com sílica titanizada (SiTB)/50% PMOS inicial, imobilizada com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 9,0) 97
27. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com sílica titanizada (SiTB)/50% PMOS inicial, imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 12,0) 98
28. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com sílica titanizada (SiTB)/50% PMOS inicial, imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 13,0) 99
29. Cromatogramas da amostra padrão sobre sílica titanizada (SiTB/PMOS), carregamento inicial 50% inicial PMOS, irradiada (120kGy) e extraída após lavagem com 10.000 vezes o volume da coluna em (A) pH 12,0 e (B) 4000 vezes em pH 13,0. Condições cromatográficas: vazão fase móvel: 0,3 mL

min⁻¹, Vol. amostra: 15 µL, veloc.papel: 0,5 cm min⁻¹, fase móvel: MeOH : H₂O 70:30(v/v). Ordem de saída dos componentes: acetona, benzonitrila, benzeno, tolueno e naftaleno 108

30. Cromatogramas de amostra padrão sobre sílica titanizada (SiTCl/PMOS), carregamento inicial 50% PMOS, irradiada (120kGy) e extraída após lavagem com 10.000 vezes o volume da coluna em (A) pH 12,0 e (B) 4000 vezes em pH 13,0. Condições cromatográficas: vazão fase móvel: 0,3 mL min⁻¹, Vol. amostra: 15 µL, veloc. papel: 0,5 cm min⁻¹, fase móvel: MeOH : H₂O 70:30(v/v). Ordem de saída dos componentes: acetona, benzonitrila, benzeno, tolueno e naftaleno 109

31. Estruturas dos solutos básicos: 1) atrazina; 2) fenacetina; 3) cianazina; 4) sulfametoxazol; 5) simazina; 6) cafeína; 7) anilina e 8) N,N-dimetilanilina 113

32. Cromatograma de mistura básica. Fase Estacionária: SiTCl/PMOS (120kGy)/extraída. Coluna: 150 x 3,8 mm; Fase Móvel: MeOH:H₂O 80:20 (v/v) a 0,5 mL/min. Detecção a 254 nm. Solutos: 1) anilina, 2) N,N-dimetilanilina 114

33. Cromatogramas dos fármacos. Fase Estacionária: SiTCl/PMOS (120kGy)/extraída. Coluna: 150 x 3,8 mm; Fase Móvel: MeOH:NaOH_(aq) 40:60 (v/v), pH 10, a 0,5 mL/min. Detecção a 254 nm. Solutos: 1) sulfametoxazol, 2) fenacetina, e 3) cafeína 115

34. Cromatogramas de fármacos. Fase Estacionária: SiTB/PMOS (120kGy)/extraída. Coluna: 150 x 3,8 mm; Fase Móvel: MeOH:NaOH_(aq)

- 40:60 (v/v), pH 10, a 0,5 mL/min. Detecção a 254 nm. Solutos: 1) sulfametoxazol, 2) fenacetina, e 3) cafeína 116
35. Cromatograma de algumas triazinas (herbicidas). Fase Estacionária: SiTCl/PMOS (120kGy)/extraída. Coluna: 150 x 3,8 mm; Fase Móvel: MeOH:H₂O 60:40 (v/v) a 0,3 mL/min. Detecção: 230 nm. Solutos: 1) cianazina, 2) simazina e 3) atrazina 117

1. Valores de D_p e V_p para a sílica nua, titanizada e com diferentes carregamentos de PMOS sorvido mecanicamente	64
2. Área superficial específica ($m^2 g^{-1}$) da sílica titanizada com diferentes carregamentos de PMOS sem extração	67
3. Teor de titânio no suporte (%)	71
4. Energia de ligação dos elementos do SiTCl (eV)	72
5. Massas molares e polidispersividade obtidas para o PMOS do SiTB ...	76
6. Teor de Carbono (%) e quantidade de PMOS sorvida	79
7. Extração de PMOS por solventes	80
8. Concentração dos grupos hidroxilas ($mmol g^{-1}$)	81
9. Condições para avaliação dos parâmetros cromatográficos para as colunas recheadas com SiTB/PMOS e SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS, para as duas fases) de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama	84
10. Parâmetros cromatográficos para as colunas recheadas com SiTB/PMOS de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama	84
11. Parâmetros cromatográficos para as colunas recheadas com SiTCl/PMOS de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama	85
12. Teor de PMOS (%) no material de recheio SiTB/PMOS antes e após a sua utilização, de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama. Carregamento inicial de 50% de PMOS	86
13. Teor de PMOS (%) no material de recheio SiTCl/PMOS antes e após a sua utilização, de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama. Carregamento inicial de 50% de PMOS	86

14. Dados para Otimização da Dose de Radiação e Solvente de Suspensão para SiTB/PMOS e SiTCl/PMOS	87
15. Parâmetros Cromatográficos para SiTB/PMOS e SiTCl/PMOS	87
16. Parâmetros Cromatográficos das Colunas Recheadas com SiTCl/PMOS ..	88
17. Parâmetros Cromatográficos das Colunas Recheadas com SiTB/PMOS ..	88
18. PMOS (%) na fase estacionária (SiTB) antes e após sua utilização	90
19. PMOS (%) na fase estacionária (SiTCl) antes e após sua utilização	90
20. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS) imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel neutra (pH 7,0)	100
21. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS) imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH 9,0)	101
22. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS) imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH 12,0)	102
23. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento	

- inicial 50% PMOS) imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH 13,0) 103
24. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS) imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel neutra (pH 7,0) 104
25. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS) imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH 9,0) 105
26. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS) imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH 12,0) 106
27. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS) imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH 13,0) 107
28. Teor de titânio e PMOS nas fases estacionárias SiTCl e SiTB (carregamento inicial de 50%), irradiadas e extraídas, antes e após a

passagem de 10.000 vezes o volume da fase móvel pela coluna em diferentes valores de pH	110
29. Valores de eficiência $(N/m)^a$ obtidos para colunas recheadas usando como suporte SiTB ou SiTCl, em diferentes tempos de armazenamento	111

I. Introdução

A cromatografia é uma técnica analítica de separação constituída de duas fases; uma estacionária e outra móvel. Os componentes da mistura a serem separados, uma vez introduzidos no sistema, são seletivamente retidos pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais desses componentes. A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma de suas mais importantes modalidades com capacidade de realizar separação e análises de diferentes compostos em pouco tempo, com alta eficiência, resolução e sensibilidade, consumindo volumes da ordem de μL de amostras (1,2).

No início da década de 90, HUPE (3) discutiu brevemente a história dessa técnica onde identificou vários fatores que desempenharam papel importante no seu desenvolvimento. O êxito dessa técnica de análise deve às mudanças ocorridas em sua instrumentação e metodologias analíticas, através dos muitos avanços tecnológicos: progressos na compreensão de vários mecanismos de separação; desenvolvimento e aperfeiçoamento dos detectores tais como: UV-visível com arranjo de diodo, fluorescência e eletroquímico; a utilização de computadores no controle de instrumentação, armazenagem e avaliação de dados e desenvolvimento de métodos e aperfeiçoamento de componentes eletrônicos que conduziram a uma aplicação dirigida, proporcionando o acoplamento com outras técnicas analíticas, tais como o espectrômetria de massas.

Atualmente, mais de 90% das colunas utilizadas em CLAE de fases normal e reversa utilizam a sílica como suporte cromatográfico, que pode ser encontrada em diferentes tamanhos, formas e graus de porosidade e

apresenta alguns dos requisitos exigidos, tais como resistência mecânica a altas pressões e grande área superficial (4-6).

I.1. A Sílica

A sílica utilizada em recheios na cromatografia líquida é geralmente porosa e não cristalina, com a fórmula geral $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, e possui água quimicamente ligada a sua superfície em quantidades estequiométricas, formando os grupos silanóis, responsáveis pela característica polar da sílica utilizada em fase normal e, através de reação química, pela retenção de moléculas orgânicas em sua superfície, obtendo-se as fases ligadas do tipo fase reversa. A sílica apresenta uma superfície irregular quanto ao tipo de espécies químicas em sua superfície, que podem ser: silanóis livres, vicinais ou geminados, água fisicamente adsorvida e ligações tipo siloxano (Si-O-Si). A forma como estes silanóis estão presentes em sua superfície é ilustrado pela Figura 1, (7).

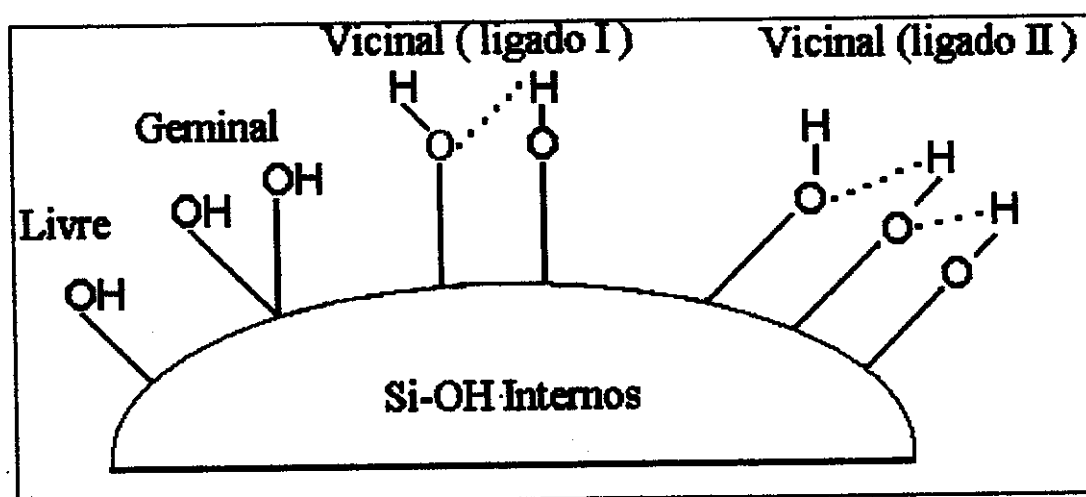


Figura 1. Os diferentes tipos de hidroxila na superfície de sílica (7).

A concentração de grupos silanóis na superfície da sílica varia segundo alguns autores de 4,5 a 8,0 (8,9) ou 9,0 $\mu\text{mol m}^{-2}$ (6) até uma temperatura de 150°C. No entanto, existe concordância entre os autores citados de que apenas 4 a 5 $\mu\text{mol m}^{-2}$ destes silanóis reagem. A água fisicamente adsorvida ou ligada aos grupos silanóis através de pontes de hidrogênio pode ser removida por aquecimento à 150°C por algumas horas. O aquecimento entre 200 a 800°C dá origem à desidratação dos grupos silanóis, ou seja, dá origem à formação de siloxanos. Caso a temperatura não exceda 600°C, os grupos siloxanos podem ser reidroxilados quando expostos à água. A perda dos grupos hidroxilas é irreversível se a sílica for aquecida a temperaturas superiores a 1200°C, pois sofre alteração em sua estrutura cristalina, convertendo-se de sua superfície hidrofílica para uma superfície hidrofóbica.

O caráter ácido da sílica, devido aos grupos silanóis, confere-lhe algumas propriedades trocadoras de íons que são altamente dependentes do pH, da área de superfície e da concentração dos grupos silanóis. Sua aplicação é, portanto, limitada para o intervalo de pH entre 2,0 e 8,0. Para pH maior que 8,0 a sílica se solubiliza lentamente, alterando a compactação da coluna, levando a mudanças na retenção do soluto e perda de eficiência (7-10). A literatura cita algumas formas de se reduzir a solubilidade de sílica (11, 12), entre elas a saturação de sílica com óxidos metálicos, tais como a alumina e a zircônia. A sílica tratada com zircônia é estável em pH 9,5 por longos períodos (12).

I.2. Cromatografia Líquida Com Fases Quimicamente Ligadas À Sílica

A cromatografia de fase reversa, que consiste de uma fase estacionária de menor polaridade e uma fase móvel de maior polaridade, sofreu desde o início de seu uso, um grande desenvolvimento a partir da introdução das fases estacionárias quimicamente ligadas (13), tornando-se um dos processos analíticos mais utilizados em CLAE (14).

Na década de 70, COLIN e GUIOCHON (10) publicaram um artigo onde descreveram as propriedades gerais das fases ligadas e o desenvolvimento simultâneo da fase reversa, identificando algumas de suas vantagens quando comparadas à Cromatografia Líquida-Líquida Clássica (CLL), bem como algumas de suas limitações. A aplicação de fases quimicamente ligadas permite uma maior estabilidade das fases estacionárias frente a fases móveis mais agressivas, não sendo portanto necessária a pré-saturação da fase móvel, até então necessária na CLL, enquanto a coluna se equilibra rapidamente, permitindo a eluição por gradiente e tempos de retenção mais reprodutíveis, sendo por isso, de grande aplicabilidade na separação de compostos ou amostras até então insolúveis.

As colunas cromatográficas do tipo fase reversa são geralmente recheadas com material pelicular ou poroso à base de sílica à qual se encontram quimicamente ligados, por ligações covalentes tipo siloxano ($\text{Si} - \text{O} - \text{Si} - \text{C}$), fases estacionárias que consistem de moléculas orgânicas simples ou mais complexas de 1 a 30 átomos de carbonos, com mais destaque para as cadeias de 8 ou 18 átomos, denominadas de fases estacionárias quimicamente ligadas. As principais vantagens encontradas ao se utilizar as fases estacionárias quimicamente ligadas são maior estabilidade química, seletividade,

compatibilidade à técnica de eluição por gradiente, maior aplicabilidade de Cromatografia Líquida para solutos altamente polares e o desenvolvimento de técnicas de fase reversa e técnicas de eluição por pares de íons (15). Acredita-se que a separação dos componentes de uma dada amostra ocorre tanto por partição devido à fase líquida, quanto por sorção, devido aos grupos silanóis remanescentes no suporte cromatográfico. Isso leva as colunas de fases ligadas a serem estabilizadas, parcialmente, por capeamento ("end-capping"), que consiste em reagir os grupos silanóis residuais com organoclorosilanos, tais como o trimetilclorosilano (16-19).

Para completar o processo de estabilização através do capeamento e reduzir ou eliminar a limitação de interface sílica/camada orgânica, utiliza-se um processo que envolve a cobertura ("encapsulation") da superfície de sílica com um filme polimérico antes de ligar a fase cromatográfica (20,21). Outra forma de modificação utilizada são as ligações entrecruzadas ("cross-linkages") produzidas por agentes químicos (22-24), aquecimento (23, 25) ou radiação ionizante (24, 26).

Outros métodos testados são a proteção da superfície do suporte por grupos volumosos (27), ou ligados ao átomo de silício do reagente silanizante em substituição ao metil, ou adicionados no entrecruzamento controlado (28, 29).

I.3. Cromatografia Líquido-Líquido Usando Sílica Como Suporte

Um método opcional é utilizar o velho conceito de Cromatografia Líquida-Líquida (CLL) e evitar o uso de "fase ligada", onde uma fase estacionária encontra-se sorvida, sem formação de ligações covalentes fortes,

nos poros das partículas do suporte cromatográfico. Este tipo de fase foi tradicionalmente obtida por um processo dinâmico, onde moléculas semelhantes às fases estacionárias, dissolvidas na fase móvel, entram nos poros para compensar as moléculas dissolvidas por essa última. Os líquidos utilizados no passado como fase estacionária consistiam de moléculas de baixa massa molar, já que as tentativas feitas para usar moléculas maiores, menos solúveis na fase móvel, resultaram em separações de pouca aplicação (1).

Devido a isso, a CLL, muito usada nas décadas de 60 e 70, quase desapareceu quando as fases quimicamente ligadas chegaram ao mercado, pois tinha como desvantagem a necessidade de um controle rigoroso de temperatura e concentração, para que se obtivesse um "estado estacionário", que resultasse numa cromatografia confiável e reprodutível.

No entanto, as vantagens inerentes à utilização da CLL se sobrepuseram a essas limitações:

- inúmeros líquidos, com diferentes propriedades podem ser utilizados (30).
- é difícil, mas possível, o controle de concentração e temperatura, e, com isso, obterem resultados de alto nível de reprodutibilidade sem problemas, tais como, desempenho da coluna, resultante da perda contínua de fase ligada;

A técnica de manter uma camada adsorvida sobre uma superfície, através de forças eletrostáticas e/ou forças de van der Waals, também se encontra aplicada à confecção de fases utilizadas em algumas separações em Cromatografia de Íons, com duas colunas (31) ou na separação de fases quirais para CLAE baseadas em carbamatos (32) ou ciclodextrinas (33) adsorvidas sobre a sílica derivatizada.

Em trabalhos recentes, o grupo de Pesquisas em Cromatografia Líquida do Instituto de Química da UNICAMP reabriu o assunto sobre a utilidade da CLL em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (34, 35). Nestes trabalhos, um líquido polimérico, como o poli(metiloctilsiloxano), encontra-se sorvido nos poros da sílica cromatográfica. A solubilidade do polímero é muito baixa quando utilizado em fases móveis em CLAE do tipo reversa. Dessa forma, o polímero permanece nos poros da sílica cromatográfica e a coluna adquire uma certa estabilidade. Um outro fator que incentivou estes trabalhos foi que as colunas preparadas dessa forma apresentaram bom desempenho cromatográfico, comparável em eficiência às colunas preparadas, por técnicas similares, com as fases estacionárias quimicamente ligadas.

Como exemplo, um dos trabalhos (34) demonstrou que moléculas grandes, tal como o poli(metiloctilsiloxano) de alta massa molar, quando adsorvido nos poros da sílica, fornece boas propriedades cromatográficas sem a utilização de tratamentos especiais que sustentem a ligação química das moléculas orgânicas à superfície da sílica e, através de espectroscopia de infravermelho, demonstrou-se que os grupos silanóis diminuíram com o aumento do teor do polímero no suporte cromatográfico indicando, pois, a saturação dos poros da sílica e a diminuição de grupos silanóis expostos, confirmando a teoria de que a quantidade de fase estacionária líquida colocada sobre o suporte é um dos principais parâmetros a ser determinado.

I.4. A Modificação Da Superfície Da Sílica

A sílica tem sido o material de escolha para a CLAE desde o princípio, devido a sua alta força mecânica e tecnologia avançada na produção

de partículas de tamanho, área superficial específica e tamanho de poros controlados precisamente, em várias dimensões, tornando a utilização deste material versátil e reprodutível. Porém, a sílica apresenta algumas limitações, tais como a baixa estabilidade química em meios alcalinos, tendo sua aplicação limitada à região de pH entre 2 e 8, e a heterogeneidade de sua superfície que é coberta com grupos silanóis polares, que afetam o mecanismo de interação ao reagir com solutos básicos ou moléculas bio-orgânicas, adsorvendo-as. Vários métodos têm sido desenvolvidos com o objetivo de sobrepujar estas limitações. Um deles envolve a utilização de recheios densos ou fatores estéricos impostos pela escolha adequada da unidade ligante que protege a superfície. O ponto vulnerável de qualquer material à base de sílica são as ligações siloxano de sua superfície ($\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$) que são facilmente hidrolisáveis, tanto em meio ácido quanto básico, enquanto as unidades ligadas, que são compostas por ligações do tipo C-C, C-H, C-O e C-N, são estáveis numa faixa bem maior de pH que a sílica nua (36).

Entre os meios possíveis para se obterem superfícies de sílica mais resistentes às fases móveis de pH variável, bem como pelos solutos polares, está a modificação do suporte, por meio de reação química, colocando-se óxidos de um metal de transição, zircônio ou titânio, em sua superfície, através dos correspondentes cloretos (37-40).

Ainda na década de 80, como forma de substituição aos géis de dextrana altamente cruzados na separação de proteínas e enzimas, foi depositado óxido de zircônio sobre a superfície da sílica porosa com o objetivo de modificar parcialmente sua superfície tornando-a menos sensível à hidrólise, seguida da derivatização da superfície pela ligação de um

organosilano hidrofílico. O tratamento com zircônio reduziu as restrições nas condições de operação em níveis de pH maior que 8 sem alterar o desempenho da coluna, com alta resolução, além do aumento de estabilidade da fase ligada em fases móveis tamponadas, até pH 9. Espectros de Ressonância Magnética Nuclear com Polarização Cruzada segundo rotação em um ângulo mágico (^{29}Si -CP-MAS NMR) diferenciaram os diferentes tipos de átomos de silício em sua superfície: silanóis livres, geminais e a diminuição destes grupos após o tratamento com o zircônio, bem como a eliminação destas espécies pelo tratamento da sílica com trimetilclorosilano (41).

KUBOTA et alii (38) obtiveram a sílica gel modificada através da reação de grupos hidroxilas da sílica com cloreto de titânio (TiCl_4) na proporção 2:1 e posterior hidrólise em atmosfera de argônio. De acordo com esta publicação, $4,4 \text{ nm}^2$ dos grupos silanóis da sílica reagiram com o cloreto de titânio a partir da densidade inicial de $4,8 \text{ nm}^2$ de silanóis na sílica pura.

A sílica gel modificada quimicamente pelo zircônio, por reação similar com cloreto de zircônio, manteve suas características originais, tais como: rigidez, diâmetro dos poros, área de superfície com uma maior estabilidade frente a agentes oxidantes na separação do crômio (VI) por sistema de injeção em fluxo, que requer operações multicíclicas, sem qualquer perda de zircônio a partir da sílica modificada inorganicamente (39).

I.5. Óxidos Metálicos Como Suporte Em CLAE

A terceira alternativa é a utilização de óxidos inorgânicos e, dentre eles, a alumina tem sido a mais aplicada, pois possui maior estabilidade alcalina do que a sílica, mas é solúvel em soluções ácidas ($\text{pH} < 3,0$) e alcalinas

(pH > 12). A alumina quando coberta por polibutadieno possui estabilidade e seletividade comparável a octadecil-sílica. Outra forma de modificá-la envolve a ligação de organofosfatos à sua superfície. Mas existem evidências de que certos aditivos à fase móvel, como o fosfato, podem levar à degradação desta fase ligada (36).

A utilização da alumina também foi aplicada a partir da silanização para formação de uma camada de hidreto de silício em sua superfície, resultando um material de recheio com propriedades de fase reversa e boa estabilidade química mesmo quando exposta por longos períodos a altas concentrações de fosfato (42). Quando comparada à sílica quimicamente ligada a grupos C_{18} , a alumina recoberta por polimerização *in situ* do ácido maleico adsorvido na alumina com 1-octadeceno e entrecruzada com 1,4-divinilbenzeno forneceu material de recheio com propriedades similares quanto à estabilidade em meio ácido e básico (43).

CHICZ et alii (44) compararam magnésia, alumina e titânia com a sílica tratada com zircônia. Estes suportes foram cobertos pela adsorção de polietilenoimina (PEI-6). A densidade da fase estacionária/ligante, capacidade de carregamento, estabilidade da coluna e de materiais característicos não baseados em sílica foram comparados com um suporte de "sílica padrão". A aplicação das fases estacionárias ao material inorgânico foi realizada através de duas etapas: primeiro a adsorção da PEI-6 ao suporte e em seguida o entrecruzamento com 1,4-butanodiol diglicil éter (BUDGE) com o objetivo de estabilizar a fase estacionária. É provável que as aminas primárias e secundárias do grupo amino do polímero interajam eletrostaticamente com o suporte inorgânico, já que as aminas terciárias estão impedidas estericamente

de ter contato direto com a superfície. Diferenças na química de coordenação dos átomos da superfície influenciaram ambas, a quantidade da PEI-6 adsorvida por unidade de área e a extensão do entrecruzamento. Enquanto a sílica, titânia e zircônia possuem número de coordenação 4 e seus óxidos possuem características de adsorção similares, o magnésio possui número de coordenação 2. Em contraste, a alumina, com número de coordenação 3, tem 37% mais oxigênio na superfície do que os outros materiais. Este dado teórico foi corroborado pelos dados obtidos, onde os suportes com densidades de oxigênio similares, tais como a sílica, zircônia, titânia e magnésia, adsorveram quantidades equivalentes de PEI-6 por m^2 de superfície, enquanto a alumina adsorveu 53% a mais do mesmo polímero. Apesar da diferença nos diâmetros das partículas destes suportes, que se esperava dificultar a comparação de seus desempenhos cromatográficos, houve similaridade quando seus tempos de retenção foram comparados. Quanto aos estudos de estabilidade química, foi confirmado que a titânia, alumina e zircônia/sílica são mais estáveis aos álcalis do que a sílica nua e que as condições alcalinas não desgastam a poliamina adsorvida.

KAWARAHARA et alii (45), baseado nas características dos materiais cerâmicos como resistência ao calor, choque mecânico e alguns efeitos químicos, investigaram a capacidade de separação cromatográfica de proteínas e aminoácidos em materiais cerâmicos de zircônia e titânia. Para a realização destes estudos utilizaram partículas de zircônia não porosa de 3 μm e titânia em suas duas formas cristalinas, tipo rutilo (não porosa; 1-2 μm) e tipo anatásio (porosa; 5-15 μm). Suas capacidades adsorptivas foram avaliadas através de parâmetros de capacidade e atividade. Através destes parâmetros

verificou-se que a titânia e a zircônia possuem maior capacidade de adsorção do que a sílica e que a espécie tipo rutilo mostrou menor capacidade de adsorção que o anatásio. Os fatores de retenção (k) de vários compostos foram comparados sob as mesmas condições de eluição e observou-se que a ordem de eluição dos compostos ácidos e básicos foi inversa nas colunas de titânia e zircônia, quando comparadas à sílica, isto é, compostos ácidos eluíram depois dos compostos básicos, sugerindo que os mecanismos de adsorção destes metais diferem dos da sílica. Isso é uma vantagem na análise de compostos básicos que, quando eluem em colunas à base de sílica, possuem picos com caudas devido às interações com grupos silanóis livres. E finalmente, as fases de titânia e zircônia permitiram a separação de compostos, tais como os ribonucleosídeos e desoxiribonucleosídeos, que não são separáveis em colunas de recheio comum.

Zircônia e titânia amorfas também podem ser preparadas pelo processo sol-gel, que permite a combinação da síntese do óxido e controle das propriedades físicas, moldando o produto final. O principal problema é obter partículas com textura rígida, tamanho ajustável, porosidade desejada e mesoporos de diâmetro médio entre 3 e 50 nm. As partículas esféricas mesoporosas de titânia e zircônia foram obtidas com pré-requisitos físicos para aplicação em CLAE. Como a polaridade dos recheios de titânia e zircônia pode ser variada em longa faixa de acordo com o tratamento térmico, suas retenções cromatográficas e seletividades podem ser adaptadas a uma classe de problemas de separação. Por exemplo, a xerogel dos metais titânio e zircônio é adequada à separação cromatográfica em fase normal de isômeros estruturais, mas exerce forte retenção em solutos hidrofóbicos, tais como

hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, que são eluídos apenas pela aplicação de uma fase móvel de alta força cromatográfica, como o metanol. No entanto, estes mesmos solutos foram eluídos a partir da zircônia e/ou titânia calcinada, utilizando-se n-heptano como fase móvel. Concluiu-se que a polaridade do adsorvente pode ser controlada pela condição do tratamento térmico. Este comportamento de retenção cromatográfica é devido à superfície química da zircônia e da titânia que, quando amorfos, representam compostos mais ou menos iônicos de cátions metálicos tetravalentes altamente polares. Os grupos hidroxilas ligados aos íons metálicos neutralizam a carga da superfície. A zircônia e a titânia agindo como base, possuem dois tipos diferentes de grupos hidroxilas; uma delas é a hidroxila livre, enquanto a ponte de hidroxila entre dois átomos metálicos vizinhos age como ácido (46).

Materiais de recheio de fase reversa foram obtidos modificando-se a superfície dos óxidos metálicos com C_{18} . Sua maior contribuição foi a estabilidade ao pH. Os recheios à base de titânia/ C_{18} foram estáveis até pH 11 e zircônia/ C_{18} estáveis até pH 12 sem qualquer efeito no fator de retenção ou largura dos picos dos solutos tratados. Resumindo, a retenção e a seletividade do n-octadecil ligado aos recheios de zircônia e titânia foram semelhantes aos materiais baseados em sílica, exceto por demonstrar uma pronunciada estabilidade até pH 12 em fases móveis organo-aquosas (46-48).

Como em todos os óxidos metálicos, os grupos hidroxilas na zircônia controlam a superfície química, particularmente com respeito às propriedades ácido-básicas. A zircônia e o fosfato de zircônio têm sido utilizados como suporte cromatográfico trocador de íon, principalmente na indústria nuclear para aplicações dos tipos: reprocessamento de soluções,

tratamento de resíduos, recuperação de produtos de fissão e separação trocadoras de íons a altas temperaturas.

Os grupos hidroxilas presentes na superfície da titânia são levemente ácidos e permitem que esta seja usada na separação de moléculas básicas sob condições de fase normal. A titânia apresenta eficiência, assimetria e tempos de retenção superiores a sílica, alumina e zircônia na separação de amostras básicas sob condição de fase normal. Essa superioridade se manteve mesmo na separação de diastereoisômeros, produtos de aplicação farmacológica, inseticidas e acaricidas (49).

Sílica, zircônia e titânia foram preparadas pela formação de monocamadas de C_{30} pela reação com triclorosilano. Espectroscopia de ^{13}C indicou maior densidade dos grupos alquila na titânia e zircônia do que nas fases a base de sílica e os dados de cromatografia líquida confirmam um arranjo organizado das cadeias orgânicas ligadas através das separações de hidrocarbonetos aromáticos, carotenóides e tocoferóis sob condições de fase reversa (50).

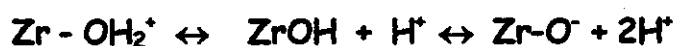
A par destas informações, RIGNEY et alii (51) estudaram as propriedades trocadoras da zircônia não modificada, como um prólogo para outros estudos em que se modificasse sua superfície. Para tanto, utilizou zircônia porosa esférica de diferentes lotes e propriedades físicas, comparando o desempenho cromatográfico com o da alumina. A estabilidade da zircônia e da alumina a pH 1, 3, 10, 12 e 14 sob condições estáticas, pela adição de 100 mg do suporte e 900 mL de solução de hidróxido de sódio na concentração apropriada, foi avaliada, monitorando-se a concentração de alumina ou zircônia na solução sobrenadante por Espectroscopia por Plasma

Acoplado Indutivamente (ICP-OES). Não foram encontradas quantidades de zircônia superiores aos limites de detecção no ICP-OES, enquanto foram encontrados níveis detectáveis de alumina para pH 1, 3, 12 e 14. Portanto, em termos de estabilidade em fases móveis aquosas a pH extremos (ácidos ou básicos), a zircônia foi superior à sílica e à alumina. As áreas superficiais são baixas quando comparadas com a da sílica utilizada em CLAE, mas é necessário lembrar que, ao se considerar os dados de área superficial, a verdadeira densidade de zircônia monoclinica é $5,8 \text{ g mL}^{-1}$, enquanto a sílica é $2,3 \text{ g mL}^{-1}$. Portanto, devido a sua alta densidade, a área superficial da zircônia é comparável a da sílica, se considerada em termos de área superficial por unidade de volume. A concentração de sítios adsortivos em sua superfície foi estimada através da curva de Análise Termogravimétrica (TGA), encontrando-se $9,8 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2}$ de sítios ativos, assumindo-se arbitrariamente que o decréscimo de massa entre $205\text{-}455^\circ\text{C}$ é devido à perda de água adsorvida e que o decréscimo entre $455\text{-}810^\circ\text{C}$ é resultante da condensação dos hidróxidos de zirconóis vicinais. Após esses resultados, foram encontrados os fatores de retenção para vários solutos, entre eles, benzilamina, ácido benzóico, ácido hidroxibenzóico, em uma variedade de soluções tampão. Os resultados demonstraram que a zircônia atua com propriedades trocadoras catiônicas e aniônicas, dependendo do pH da solução e da natureza do tampão.

A forte interação com fosfato tem muitas implicações na aplicação da zircônia como suporte cromatográfico, levando-se a examinar a adsorção de várias espécies de fosfato nesta superfície e verificando que os organofosfonatos são mais fortemente adsorvidos que os organofosfatos. Os

oxiânions nitrato (NO_3^-), bromato (BrO_3^-), tetraborato ($\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$), e tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) também foram fortemente retidos pela zircônia (51).

Sendo assim, a forma mais comum de se modificar a superfície da zircônia encontrada na literatura ainda são os tratamentos com fosfatos e fluoretos. Considerando primeiramente o fosfato, sabe-se que a zircônia possui grande afinidade por este e outros ânions, sendo convertida de trocador aniônico para catiônico pelo tratamento com solução diluída de fosfato, conversão esta reversível pela lavagem do óxido de zircônio com solução de hidróxido de sódio concentrado. Portanto, a exposição da zircônia a amostras contendo certos íons, tais como o fosfato, altera suas propriedades cromatográficas, sendo necessário remover estes ânions da amostra, ou que seus sítios de adsorção sejam bloqueados. Estudos de infravermelho têm confirmado pelo menos 2 tipos de grupos hidroxilas que são responsáveis pela natureza anfótera de sua superfície. Estas hidroxilas podem ser protonadas ou desprotonadas dependendo do pH do meio, fornecendo propriedades trocadoras aniônicas ou catiônicas, respectivamente, segundo a reação (47):



SCHAFER et alii (52, 53) publicaram trabalhos simultâneos sobre a caracterização física e química da zircônia modificada com fosfato e sua aplicação como fase estacionária bio-compatível. Várias técnicas espectroscópicas (^{31}P NMR, Raio-X) foram utilizadas para caracterizarem as espécies responsáveis pelas propriedades cromatográficas da zircônia. Sob condições neutras, temperatura ambiente e pouco tempo de contato, os fosfatos são adsorvidos na superfície da partícula, especialmente nos sítios

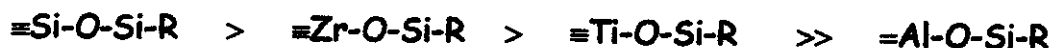
ácidos de Lewis. Para meio ácido e temperaturas elevadas, ocorre a esterificação do fosfato com grupo hidroxila da superfície. Condições agressivas, ou seja, pH muito baixo, concentração alta de fosfato, altas temperaturas e tempo longo de reação, resultaram na dissolução de parte da zircônia com "reprecipitação" dos fosfatos de zircônio na superfície. Infelizmente, não foi possível remover o fosfato adsorvido pela superfície e determinar sua concentração, pois as condições necessárias à remoção do fosfato também hidrolisam o fosfato covalentemente ligado. Estudos de ^{31}P NMR no estado sólido mostraram claramente a presença do fosfato covalentemente ligado, indicando que a superfície da zircônia não foi inteiramente coberta apenas por fosfatos adsorvidos. Estudos elementares também mostraram que esta modificação excede a monocamada. A modificação da zircônia com o fosfato bloqueou efetivamente os fortes sítios responsáveis pelas interações das bases de Lewis, tornando essa fase estacionária adequada à separação de proteínas e outras importantes moléculas biológicas.

Os trabalhos referentes à modificação da zircônia por íons fluoreto foram publicados por BLACKWELL e CARR (54, 55). O íon fluoreto é um importante agente deslocador em relação a qualquer base de Lewis na superfície do óxido de zircônio formando, com este, complexos. Por esta razão, pode ser usado como modificador, que controla as retenções de soluto na superfície do óxido metálico. O íon zircônio, por sua vez, é um cátion tetravalente estável, que possui uma relação carga/raio muito alta, característica de íons metálicos e, como tal, forma fortes complexos de coordenação com ligantes contendo oxigênio. O íon hidróxido é uma base de Lewis que também forma complexos fortes com o íon zircônio, daí a adsorção

do íon fluoreto no óxido de zircônio ser tão dependente do pH. No caso de soluções muito básicas, o íon fluoreto não consegue competir com concentrações altas de íons hidróxidos existentes em solução. Em meio ácido, o íon fluoreto é mais facilmente adsorvido. Um máximo de adsorção foi encontrado em pH 4. Para pH menor que este, a adsorção do íon fluoreto decresce devido a sua protonação. Consequentemente, o óxido de zircônio pode ser modificado, fornecendo uma superfície mais compatível e com níveis controlados para a separação de solutos sem perdas devido a adsorções irreversíveis nestes sítios. As propriedades de retenção são semelhantes às obtidas com hidroxiapatita de cálcio, $\text{Ca}_2(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$, sem as suas limitações físicas e químicas. No entanto, soluções muito ácidas devem ser evitadas, devido à formação de ácido fluorídrico em pH baixo, alterando o material de recheio e prejudicando a integridade da coluna. A esterilização do material de recheio e deslocamento de proteínas ligadas "irreversivelmente" pode ser efetuada pela lavagem com solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio, que desloca inclusive os íons fluoreto. Este ciclo de sorção e deslocamento chegou a ser repetido 50 vezes sem perda de eficiência ou seletividade do material de recheio (54, 55).

Em outro estudo, RIGNEY et alii (56) deram continuidade aos trabalhos com a zircônia através da preparação do suporte cromatográfico para CLAE em fase reversa pela deposição e entrecruzamento do polibutadieno na superfície da zircônia microporosa. Inicialmente, tentou-se produzir fase reversa baseada na zircônia pela modificação da superfície com organosilanos. Embora o suporte de fase reversa com "cobertura moderada" tenha sido obtido, a zircônia silanizada não foi estável em fases móveis aquosas devido à

suscetibilidade das ligações $\equiv\text{Zr-O-Si}\equiv$ à hidrólise. Isso reflete bem a sequência de estabilidade hidrolítica dos óxidos silanizados:



A quantidade de carbono na superfície foi facilmente variada pelo ajuste da quantidade de polibutadieno (PBD) sobre o suporte. O processo de modificação foi reprodutível, pelos dados obtidos da análise de carbono para diferentes suportes preparados a partir do mesmo lote de zircônia com a mesma quantidade de polibutadieno. É claro que, à medida que a quantidade de polibutadieno aumentou, a espessura do filme polimérico também aumentou e a área superficial diminuiu. Quando se utilizou teor alto de carbono, a inspeção microscópica das partículas do suporte mostrou uma superfície externa irregular com alto grau de agregação de partículas. Em contraste, para carbono a níveis de monocamadas, a perda de área superficial foi comparável às encontradas na silanização da sílica com octadecilsilano. A eficiência da reação de entrecruzamento iniciada por radicais livres produzido pelo peróxido de dicumila foi comparável ao obtido pela irradiação com elétrons de alta energia, demonstrados pelos espectros de Infravermelho de Reflectância Difusa por Transformada de Fourier (DRIFT). A zircônia/PBD apresentou características de retenção similares às fases ligadas alquil-sílica para a retenção de pequenos solutos em tampão fosfato de pH 3. Sob outras condições, particularmente quando o fosfato está ausente da fase móvel, solutos ácidos são fortemente retidos devido à interação com sítios trocadores aniônicos (sítios básicos) na superfície. Estas interações podem ser controladas pela adição de fosfato à

fase móvel. Não houve qualquer evidência de degradação do suporte mesmo quando este foi exposto à hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ à 100°C . A alumina/PBD não foi estável nestas condições.

Estes estudos (51, 56) com zircônia porosa, demonstrando a estabilidade da zircônia até pH 14 e a estabilidade produzida pela deposição de polímeros, até pH 14 a 100°C (30.000 vezes o volume da coluna) sem perda detectável do suporte ou da cadeia polimérica, instigaram outros pesquisadores a continuarem suas investigações. Sabe-se que temperaturas relativamente altas e condições extremamente alcalinas ou ácidas são necessárias na esterilização de colunas para utilização na purificação de produtos farmacêuticos ou limpeza de colunas após injeções sucessivas de amostras brutas. Obviamente, um suporte cromatográfico que possa suportar muitos ciclos a temperaturas altas, combinado a condições extremas de alcalinidade ou acidez, é de grande aplicabilidade em indústrias farmacêuticas e biotecnológicas. A zircônia, além das características já citadas, possui natureza refratária, podendo ser aquecida a temperaturas superiores a 500°C , com menor mudança de estrutura porosa que a sílica ou alumina.

WEBER et alii (48) optaram por modificar a superfície química de partículas de zircônia através da deposição de vapor orgânico de tolueno a temperaturas elevadas para criar uma fina camada de carbono, que resultasse num suporte de fase reversa para cromatografia líquida. Pelo processo utilizado foi possível preparar partículas onde mais de 97% da superfície do óxido metálico fosse coberta pelo carbono. Em alguns casos, as partículas cobertas com carbono foram hidrogenadas a temperaturas elevadas, na expectativa de se remover sítios de adsorção de alta energia, criando,

portanto, uma superfície energeticamente mais homogênea. Modificação química da superfície zircônia/carbono foi também investigada através da deposição de um pré-polímero e sua posterior imobilização com peróxido de dicumila. Este processo criou uma camada polimérica permanente na superfície da partícula. De acordo com as características de retenção, capacidade de carregamento e estabilidade, as partículas de zircônia/carbono comportaram-se como suporte do tipo fase reversa, mostrando forte retenção de solutos não polares, com estabilidade alcalina superior aos suportes de fase reversa baseados em sílica e alumina, especialmente de fase ligada. Contudo, apresenta eficiência cromatográfica moderada para solutos como alquilbenzenos, alquil fenil etéres e fenil álcoois e baixa eficiência para solutos como alquil fenonas e nitroaromáticos. Acredita-se que esta baixa eficiência seja devido a interações destes solutos com sítios residuais de alta energia na superfície do carbono. É possível aumentar a eficiência de duas maneiras: uma camada mais uniforme de PBD deve ser produzida de forma a cobrir melhor a superfície do suporte, não deixando carbonos acessíveis, ou utilizando a superfície de zircônia/carbono como uma base para a deposição do polímero, já que este material apresenta melhor eficiência do que os não tratados. A deposição de polibutadieno na zircônia/carbono aumenta a eficiência e a capacidade de carregamento. Contudo, estas vantagens são obtidas com perdas na seletividade. Mesmo com polibutadieno adsorvido, não se consegue alcançar os valores de eficiência dos suportes de fase ligada utilizados em CLAE. Mas as características de retenção do suporte de carbono "nu" tornam-no excelente candidato à separação de compostos que não são muito bem separados em fase reversa do tipo ligada, além de serem úteis na pré-concentração de solutos a

partir de soluções diluídas antes da separação por cromatografia gasosa ou líquida.

Em outro estudo, partículas de zircônia microporosas foram sintetizadas e sua superfície modificada para CLAE com fase reversa. Fases estacionárias monoméricas e poliméricas foram obtidas por reação com octadecildimetilclorosilano e octadeciltriclorosilano, respectivamente, (42, 57) ou com polibutadieno (58). A cobertura da zircônia com octadecil foi aproximadamente a mesma que as fases estacionárias à base de sílica-octadecil. Estas fases foram avaliadas em termos de propriedades cromatográficas de fase reversa com espécies ionizáveis não polares e levemente polares sob uma faixa larga de composição de fase móvel e pH. A zircônia-octadecil monomérica com capeamento ("end-capping") exibiu algumas interações metálicas tanto com solutos ácidos como básicos, que foram reduzidas na presença de agentes concorrentes (ion tartarato) na fase móvel. As fases zircônia-octadecil poliméricas exibiram maior retenção que as monoméricas, uma vez que, para os vários solutos investigados, suas adsorvidades residuais em relação a solutos ácidos foram muito menores. A retenção de compostos aromáticos apolares e moderadamente polares foi quase homoenergética em ambos os tipos de fase estacionária octadecil-zircônia. Os estudos de estabilidade conduzidos a pH extremos, 2 e 12, mostraram que a zircônia-octadecil polimérica é mais estável que a monomérica e que a zircônia-polibutadieno, por sua vez, é mais estável que as fases C_{18} , resistindo ao pH de 1 a 14. Estas fases estacionárias foram úteis na separação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, alquilbenzenos, séries homólogas de fenil álcoois, oligossacarídeos, aminoácidos, peptídeos e proteínas (3,17).

Solutos básicos, tais como aminas, foram eluídos com bandas simétricas, utilizando-se tampões neutros, ácidos ou sob condições alcalinas em fase estacionária zircônia - polibutadieno.

WIRTH et alii (59), no mesmo período, caracterizaram em termos de área superficial e grau de recobrimento partículas de zircônia modificadas com n-octadecil (C_{18}), carboidrato e Cibacron Blue. A densidade dos grupos hidroxilas da superfície foi determinada por 1H NMR e a área superficial medida através da quantidade de íons fosfatos que se ligaram aos zirconóis (ácidos de Lewis) presentes na superfície. Os resultados experimentais demonstraram que a zircônia modificada pelo Cibacron Blue é estável até pH 10,5, que a modificada pela fase reversa C_{18} é estável até pH 13 e pela fase ligada de carboidrato até pH 12.

KURGANOV et alii (60) utilizaram sílica, alumina e zircônia porosa recobertas por ligação covalente de copolímeros de estireno e vinilsilanos com e sem entrecruzamento após a imobilização da camada polimérica. Através da adsorção de nitrogênio e porosimetria de mercúrio, foi analisada a estrutura dos poros que revelou diferentes distribuições de polímero ao longo da superfície modificada e mudanças da porosidade dos óxidos iniciais, dependendo do método de imobilização do polímero. A amostra de zircônia exibiu volume específico de poros extremamente baixo e uma área superficial de $17\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ para a zircônia nua. Os valores de área superficial, volume de poros e diâmetro de poros foram reduzidos à metade após modificação de sua superfície com poliestireno. O recobrimento da superfície com o polímero, no entanto, pouco afetou a forma de distribuição do tamanho dos poros. Compostos básicos foram eluídos com picos simétricos pela alumina e zircônia

modificadas por ligações covalentes do copolímero I (estireno e vinilmetildietoxisilano), indicando a ausência de interações não-específicas entre a superfície e o soluto.

Outra publicação, além de trabalhar com os óxidos metálicos já apresentados, como a alumina, a titânia e a zircônia, apresenta um novo óxido, a tória, e uma outra forma de modificação da superfície destes óxidos (36, 61). Este método alternativo de modificação da superfície já foi utilizado na modificação da alumina, sendo adaptado aos demais óxidos dos metais de transição citados (61). O método envolve a formação de uma monocamada de hidreto de silício na superfície do suporte, que pode então reagir com uma olefina terminal na presença da platina, como catalisador. O reagente silanizante pode ser representado por: $X - Si(R'')_2(R')$,

onde: R' = grupo alquil

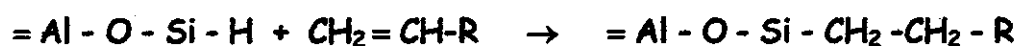
R'' = metila .

X = metóxi ou etóxi, dará origem a uma camada monomérica.

A reação abaixo para a alumina pode ser aplicada aos demais óxidos:



A alumina é preparada pela silanização com trietoxisilano na presença de água, ácido clorídrico como catalisador e dioxano como solvente. A ligação da unidade orgânica segue então pela hidrosilação da olefina terminal com o hidreto intermediário na presença de platina como catalisador:



A quantidade de trietoxissilano (TES) depositada na superfície deve ser cuidadosamente controlada para que se mantenham as características físicas (tamanho do poro e área superficial) originais do material. A modificação foi acompanhada por técnicas tais como DRIFT, Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Ressonância Magnética Nuclear de Si-29 com Polarização Cruzada Segundo a Rotação de um Ângulo Mágico (^{29}Si NMR CP-MAS), para todos os óxidos, confirmando a potencialidade destes materiais como suporte sólido em CLAE.

Resumindo o que foi descrito, os óxidos dos metais de transição utilizados em CLAE variaram quanto à forma de utilização: depositado sobre a sílica, simplesmente na forma de óxido e modificado pela sorção ou ligação de polímeros, ou íons específicos, tanto em partículas porosas, quanto peliculares. Dentre os metais, o zircônio foi, sem dúvida alguma, o mais avaliado tanto em suas propriedades físicas, quanto a sua estrutura química e aplicabilidade. Para o titânio, por sua vez, ainda restam algumas lacunas a preencher como, por exemplo, estudos mais específicos de modificação e estrutura química de sua superfície. O tório acabou de ser introduzido sendo, possivelmente, o próximo alvo de investigações nessa área de pesquisa.

Não foram muitas as referências bibliográficas encontradas que abordassem a utilização dos outros metais de transição especificamente em CLAE, mas foram encontradas algumas referências que tratam da reação entre a sílica e alguns metais de transição, tais como, titânio (37, 38) e, mais recentemente, nióbio e antimônio (62-64), como suportes para catálise homogênea, matrizes para imobilização de enzimas, separação e pré-concentração de íons a partir de soluções diluídas (39, 65), e, por que não,

materiais que podem também ser avaliados como suportes sólidos para fases estacionárias em CLAE, como por exemplo, o titânio ?

I.6. Avaliação De Desempenho Das Colunas Cromatográficas

A avaliação de desempenho das colunas cromatográficas foi obtida através da análise de alguns parâmetros cromatográficos calculados a partir de cromatogramas obtidos com amostras conhecidas. Os parâmetros a serem utilizados serão o tempo de retenção do soluto (t_R), o tempo de retenção da fase móvel (t_M), o tempo de retenção ajustado (t'_R), fator de retenção (k), resolução (R_s), eficiência (N/m), fator de separação (α) e o fator de assimetria (A_s).

Tempo de Retenção do Solute (t_R) é o tempo gasto desde o momento da injeção do soluto até o registro do máximo do pico correspondente pelo detector.

Tempo de Retenção da Fase Móvel (t_M) é o tempo gasto desde o momento da injeção até o registro de sua saída do detector.

Tempo de Retenção Ajustado (t'_R) é o tempo em que o soluto fica retido na fase estacionária, sendo calculado por:

$$t'_R = t_R - t_M \quad [1]$$

Tanto o tempo de retenção do soluto quanto o tempo de retenção da fase móvel são extraídos do cromatograma (como ilustrado na Figura 2) se o sistema possui integrador eletrônico, ou a partir das expressões [2] e [3] se é utilizado registrador potenciométrico.

$$t_R = \frac{d_R}{f} \quad [2]$$

$$t_M = \frac{d_M}{f} \quad [3]$$

Onde: f = velocidade do papel no registrador;

d_R = distância de retenção do soluto;

d_M = distância de retenção da fase móvel.

Fator de Retenção (k) é calculado pela razão entre os tempos em que o soluto fica retido na fase estacionária e na fase móvel, sendo determinado pela expressão:

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M} \quad [4]$$

Os valores de k podem variar de 2,0 a 10,0. Valores menores que 2,0 indicam que existe pouca interação entre o soluto e a fase estacionária, enquanto valores maiores que 10,0 indicam interação muito forte que levam a separações demoradas (16).

Resolução (R_s) é o parâmetro que indica se ocorreu ou não uma boa separação entre dois picos adjacentes e pode ser obtido pela seguinte expressão:

$$R_s = 1,177 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{h1} + w_{h2}} \quad [5]$$

t_{R1} e t_{R2} = tempos de retenção dos picos adjacentes;

w_{h1} e w_{h2} = largura dos picos à meia-altura, em unidades de tempo.

Uma boa separação entre os picos é indicada por valores de R_s maior que 1,5.

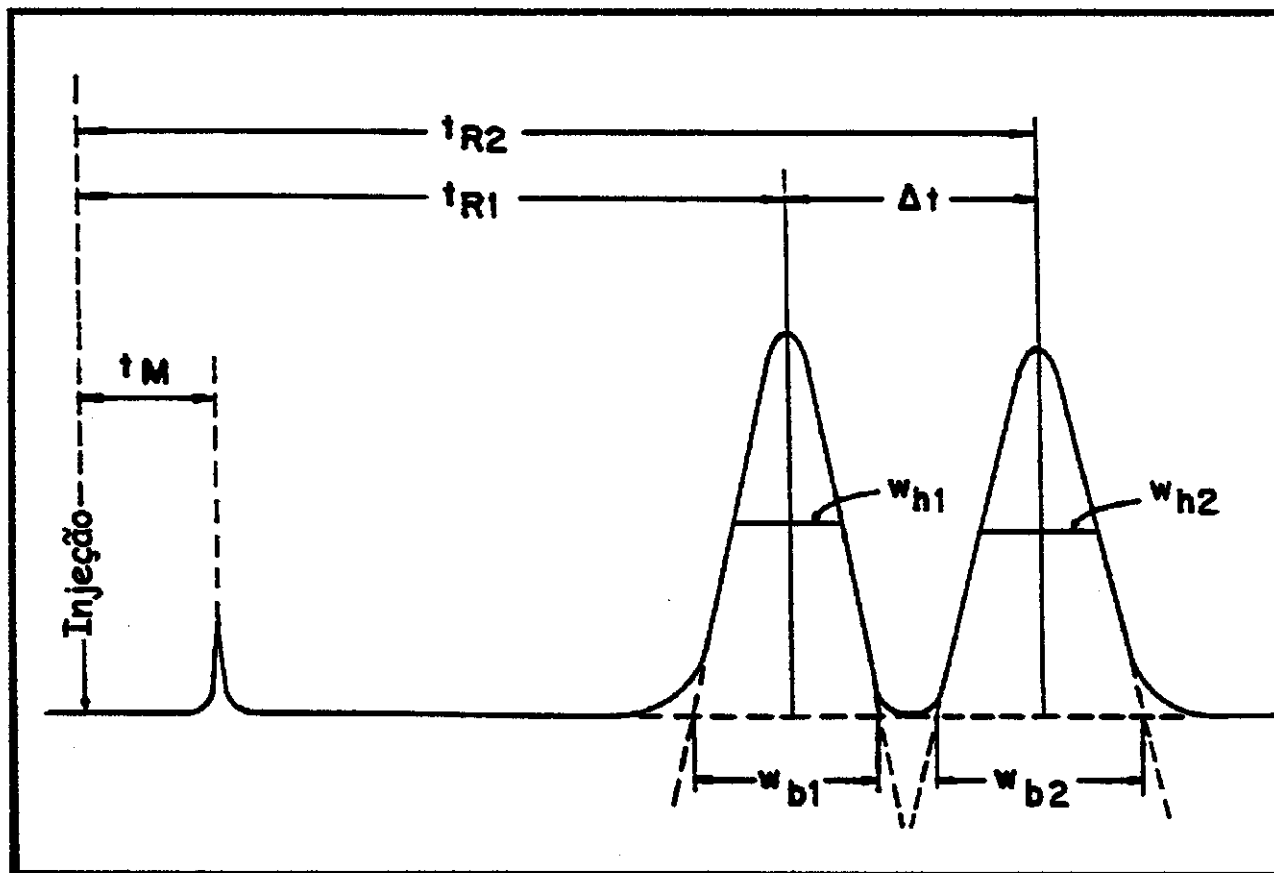


Figura 2. Cromatograma com as medidas relacionadas ao cálculo dos parâmetros cromatográficos (4).

Fator de Separação (α) mede a seletividade do sistema cromatográfico considerando a separação de dois picos adjacentes. O fator de separação é calculado pela razão entre os fatores de retenção e os tempos de retenção ajustados para os picos adjacentes considerados:

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} \quad [6]$$

O fator de separação não é suficiente para avaliar a separação, pois considera os tempos de retenção dos máximos dos picos e não a largura dos mesmos.

Eficiência (N/m) é um dos parâmetros mais importantes na avaliação do recheio de uma coluna cromatográfica, sendo calculada em função do seu número de pratos. Um prato equivale a uma etapa de equilíbrio do soluto entre a fase estacionária e a fase móvel. Quanto maior o número de etapas de equilíbrio, maior será o número de pratos e conseqüentemente maior será a eficiência de separação. A eficiência é dada por:

$$N = 5,545 \frac{t_R^2}{w_h} \quad [7]$$

em termos de pratos por metro, o parâmetro é calculado por:

$$(N/m) = \frac{N}{L} \quad [8]$$

Onde L é o comprimento da coluna em metros. Qualitativamente, a eficiência pode ser avaliada pelo formato do pico cromatográfico. Quanto mais estreito for o pico, maior é a eficiência da coluna na separação do soluto a que o pico se refere.

A expressão para o cálculo de número de pratos por metro, ou seja, a eficiência descrita acima, é válida para picos simétricos. Para picos assimétricos, existem erros no cálculo de N/m se a expressão [7] for utilizada. Por essa razão deve-se calcular o fator de assimetria (A_s) do pico a 10% de sua altura, de acordo com a Figura 3. A literatura indica como aceitáveis os valores

entre 0,9 e 1,2 (66). Valores até 1,6 são admitidos (1), mas sugerem que colunas com valores de assimetria maiores que 1,6 sejam descartadas (4).

Apesar da importância da eficiência como parâmetro cromatográfico, não deve ser utilizada diretamente para comparação de desempenho entre colunas, pois o número de pratos está relacionado com as dimensões das colunas, que podem variar. Para comparação entre colunas é utilizada a altura equivalente a um prato (H), que é a razão entre o comprimento da coluna (L) e a eficiência em número de pratos (N).

$$H = \frac{L}{N} \quad [9]$$

A Equação da Curva de van Deemter é outro meio utilizado para expressar a eficiência de uma coluna cromatográfica em função da altura equivalente a um prato:

$$H = A + \frac{B}{\mu} + C\mu \quad [10]$$

Onde:

μ = velocidade linear da fase móvel, determinada pela equação [1]:

$$\mu = \frac{L}{t_M} \quad [11]$$

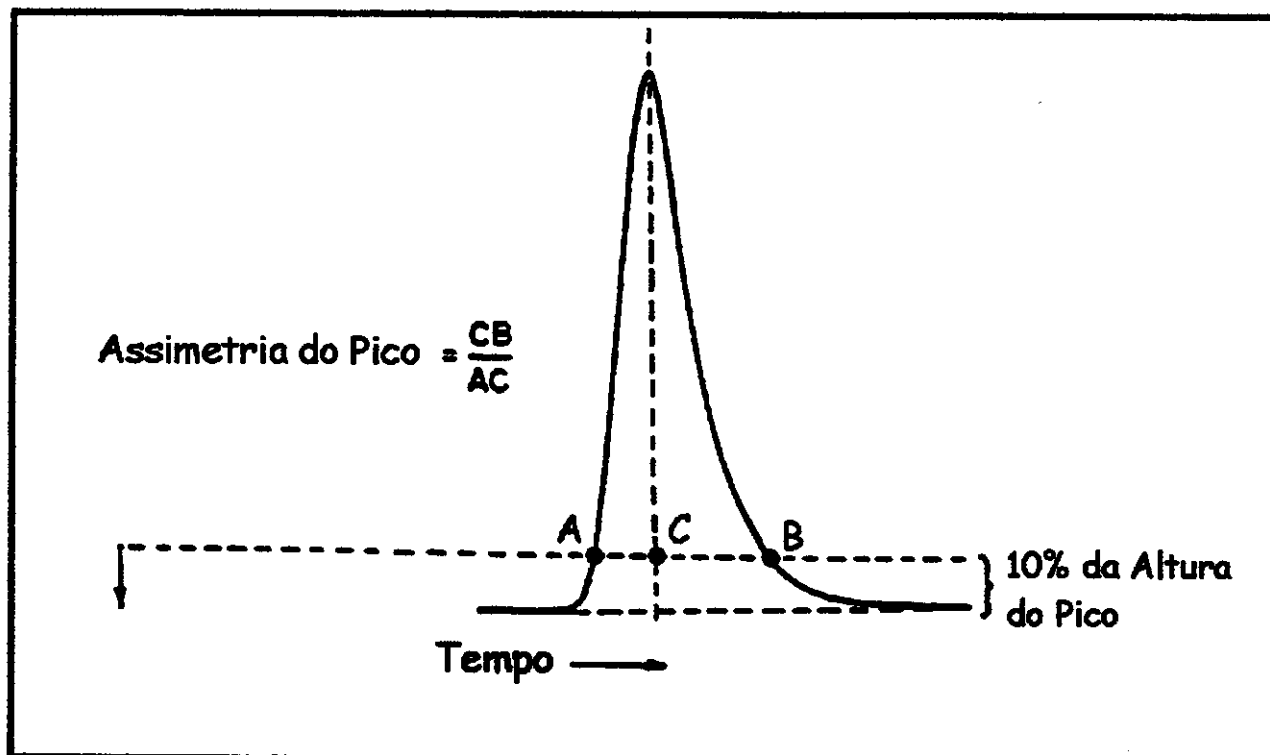


Figura 3. Medidas para cálculo do fator de assimetria (16).

O termo A, da equação [10], é a difusão turbilhonar responsável pelo alargamento dos picos devido aos diferentes caminhos percorridos pelas moléculas do soluto no interior da coluna cromatográfica. Uma forma de minimizar esse efeito é utilizar colunas de diâmetro interno reduzido e partículas pequenas e uniformes. O termo B, difusão longitudinal, está relacionado com a difusão molecular do soluto na fase móvel, devendo-se portanto utilizar altas velocidades lineares de fase móvel para minimizar seu efeito. O termo C é transferência de massa, que inclui a transferência de massa na fase móvel (C_M) e a transferência de massa na fase estacionária (C_S), corresponde ao alargamento dos picos devido à dificuldade de transferência de

massa do soluto entre as fases móvel e estacionária. Para minimizar o termo C , o ideal é que a espessura do filme líquido que recobre o suporte seja mínima (67). A curva de van Deemter fornece a vazão ótima de fase móvel associada a sua velocidade linear (μ), correspondente ao valor mínimo da altura de um prato de uma coluna cromatográfica. Na prática, a vazão da fase móvel é determinada através da construção da curva de van Deemter, ilustrada na Figura 4.

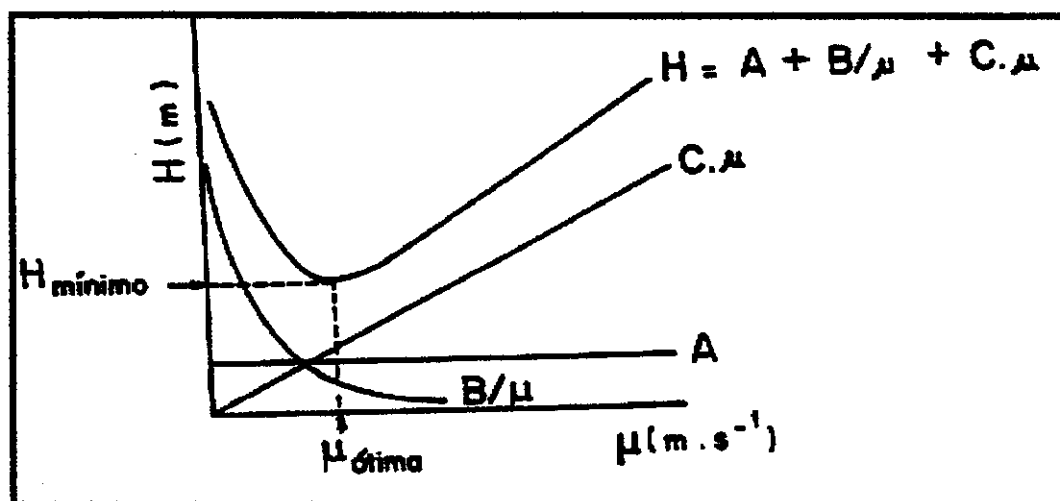


Figura 4. Curva da Equação de van Deemter (4)

I.7. Radiação Ionizante - Radiação Gama

A energia pode ser transferida para um sistema químico de várias formas, dentre elas encontram-se métodos térmicos, fotoquímicos, descargas elétricas, ultrassom e radiação ionizante, que implica todas as radiações corpusculares ou eletromagnéticas. A radiação ionizante introduz na molécula mais energia que a necessária para a excitação ou mesmo ionização da mesma, razão pela qual o processo não é seletivo.

A dose absorvida é definida como a quantidade de energia depositada por unidade de massa e depende da densidade eletrônica da amostra, pois as radiações ionizantes interagem com a eletrosfera do átomo. Até recentemente, a unidade de dose absorvida era o rad, que corresponde à deposição de 100 ergs em um grama de material, mas por razões práticas, o megarad (Mrad) ou 10J/kg também foi utilizado. Atualmente, a unidade adotada pelo Sistema Internacional de Unidades é o Gray (Gy), que corresponde a 100 rad, e a unidade prática utilizada é o kiloGray (kGy), que corresponde a 0,1 Mrad. A taxa de dose, por sua vez, é definida como a dose absorvida por unidade de tempo e é expressa em Gy s^{-1} (68).

As radiações ionizantes podem ser classificadas de acordo com a carga e a sua massa. As partículas diferem da radiação eletromagnética, raios gama e raios-X, porque possuem massa, tais como feixe de elétrons, partículas alfa, partículas beta, nêutrons. Todas essas partículas interagem com a matéria produzindo modificações pela interação com a eletrosfera do átomo.

Neste trabalho foram utilizados os raios gama (γ), que são radiações eletromagnéticas de origem nuclear que não possuem massa ou carga elétrica e apresentam comprimentos de onda curtos, na região de 3×10^{-9} a 3×10^{-11} cm; por isso transportam energia entre 40 keV e 5-10 MeV. Quando a radiação gama incide na matéria, ocorrem interações com os elétrons das moléculas. Estas interações são dependentes da energia de radiação e do meio em que se propaga. O fóton, ao interagir com a matéria, transfere sua energia através de três processos de natureza diferentes: efeito fotoelétrico, efeito Compton e formação de pares (69).

No efeito fotoelétrico, Figura 5A, o fóton transfere toda a sua

energia para um elétron atômico. O elétron ejetado tem uma energia igual à diferença entre a energia do raio gama incidente e a energia de ligação do elétron. O produto deste processo de ionização é a formação de um par de íons; o átomo positivo e o elétron ejetado. A energia do fóton incidente é normalmente menor que 0,511 MeV.

O efeito Compton ocorre quando um fóton interage com um elétron átomo ou um elétron livre, que é então acelerado, sendo um novo fóton criado com menor energia que a incidente. Este efeito predomina para fótons com energias entre 0,5 e 1,5 MeV que interagem com materiais de número atômico alto.

A formação de pares é o resultado da absorção completa de um fóton, produzindo o par pósitron-elétron, representado na Figura 5C. Para que o processo seja possível, a energia do fóton deve ser igual ou superior a 1,02 MeV, que é a soma das energias de repouso do elétron e do pósitron. O pósitron e o elétron perdem energia para o meio, produzindo as mudanças químicas e físicas. O pósitron ao se chocar com o um elétron, sofre aniquilação e emite dois raios gama, em sentidos opostos, com energias de 0,511 MeV cada.

Nos três tipos de interação gama, as primeiras consequências são a absorção de energia e a produção de uma grande quantidade de elétrons com energia cinética suficiente para se deslocarem no interior do material, transferindo por colisão esta energia às moléculas, resultando em ionização, dissociação e excitação.

As fontes emissoras de radiação gama mais disponíveis e utilizadas em química das radiações são as que contêm os radionuclídeos ^{60}Co e ^{137}Cs , com tempos de meia-vida de 5,26 e 30 anos, respectivamente.

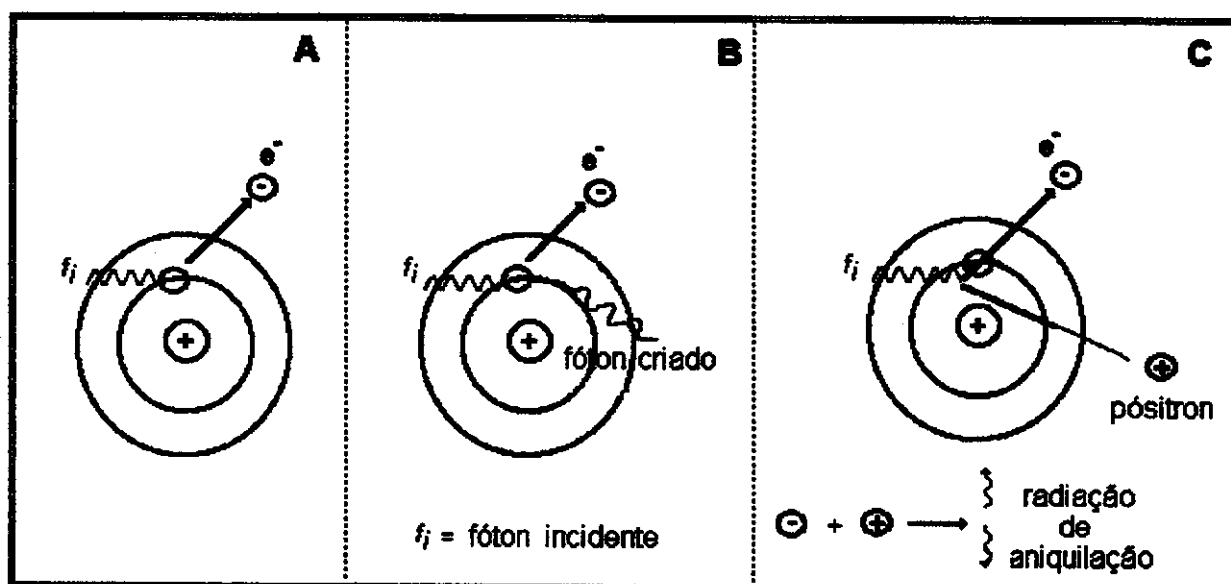


Figura 5. Esquema representando (A) efeito fotoelétrico, (B) efeito Compton e (C) Formação de pares (68).

Apesar do tempo de meia-vida do ^{137}Cs ser pelo menos seis vezes maior que a do ^{60}Co , este último é preferido por liberar raios gama mais energéticos e, conseqüentemente, com maior poder de penetração. Enquanto as fontes de ^{137}Cs emitem raios gama de 0,66 MeV, as fontes de cobalto-60 emitem dois raios gama com energia média de 1,25 MeV (70).

Como ilustrado pela Figura 6, quase todos os núcleos ^{60}Co , ao se decaírem por emissão de partículas beta, formam um estado excitado ^{60}Ni , o qual tem uma energia, comparada com a do estado energético fundamental, correspondente a 2,505 MeV. Este núcleo ^{60}Ni , num estado excitado, emite um raio gama de energia correspondente a 1,172(2,505 - 1,333) MeV, e forma o estado excitado de nível energético de 1,333 MeV, o qual, por sua vez, emite um raio gama com esta energia até o estado fundamental.

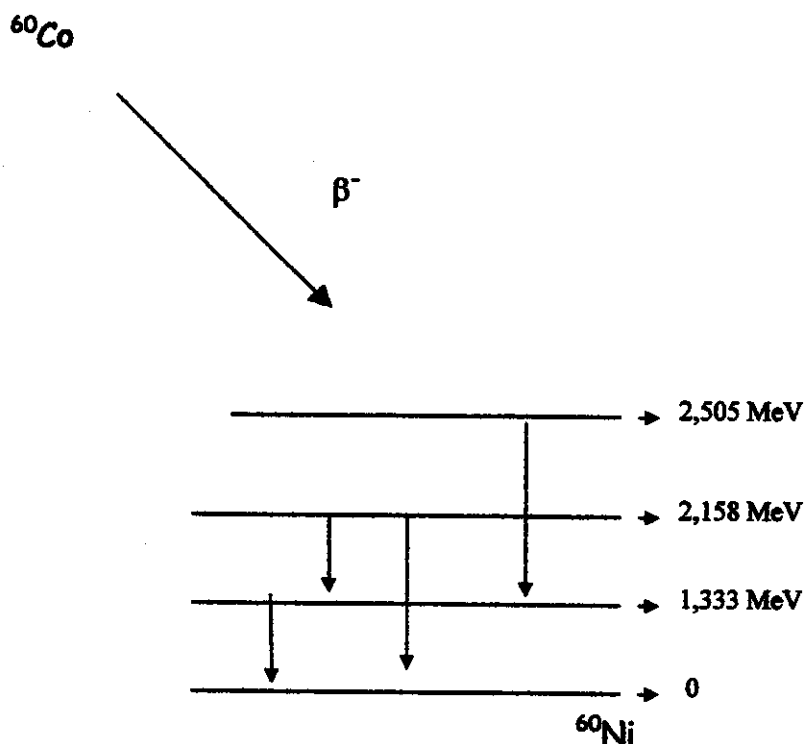


Figura 6. Esquema de decaimento do ^{60}Co por emissão de partículas beta (β). As flechas verticais representam os 4 raios gama (γ) emitidos pelo ^{60}Ni nos seus estados excitados (71).

Alguns decaimentos beta do ^{60}Co produzem o estado 1,333 MeV diretamente, mas com probabilidade de ocorrência na emissão de 0,01%; outras, 0,004%, formam o estado 2,158 MeV (71). Existem dois tipos de irradiadores de ^{60}Co . Em um dos tipos, a fonte radioativa é mantida num poço de chumbo, quando não está irradiando e é denominada tipo seca, utilizada em pesquisas que não requerem alta atividade da fonte, entre 100 e 10.000 Ci. O segundo tipo de fonte, usada para irradiação em escala industrial, é a fonte úmida, de alta atividade (100.000 a 1.000.000 Ci), onde a fonte é guardada em uma piscina de água de 6 m de profundidade, de forma a permitir sua manutenção quando não está em uso (69).

Polímeros, quando irradiados, sofrem cisão ou entrecruzamento da cadeia principal com mudanças em suas propriedades físico-químicas. Enquanto a cisão da cadeia principal diminui a massa molar média com perda das propriedades poliméricas, o entrecruzamento leva ao aumento da massa molar com melhoria das propriedades mecânicas. Na prática, polímeros mono, di, trissubstituídos por halogênios ou grupos volumosos em geral, sofrem cisão enquanto os polímeros de cadeias longas monosubstituídos ou não substituídos entrecruzam. Deve-se sempre lembrar que os fatores estéricos são parcialmente responsáveis pelos diversos comportamentos dos diferentes polímeros. Quando os polímeros são irradiados na presença de ar, os danos radiolíticos são maiores do que quando irradiados em sua ausência, favorecendo a cisão. O oxigênio reage com os radicais radiolíticos formados através do mesmo mecanismo químico que a oxidação ocorre, quando outros agentes promovem a formação de radicais, tais como, o calor, luz, etc. As reações oxidativas acontecem devido à facilidade de difusão e afinidade do oxigênio por radicais, levando a identificação de grupos funcionais tais como, cetônicos, ácidos carboxílicos e álcoois na estrutura do polímero, além das espécies oxidadas como CO , CO_2 e H_2O (72).

Espera-se, portanto, que a radiação gama na presença do ar, interaja direta ou indiretamente no PMOS, promovendo modificações estruturais que permitam a imobilização ou o entrecruzamento das cadeias poliméricas, levando a um aumento da massa molar e estabilização do polímero, através de um filme fino sobre a superfície do suporte, blindando os grupos hidroxilas ou reduzindo uma possível solubilização do polímero na fase móvel através do aumento de sua viscosidade.

II. Objetivos

Este trabalho tem como objetivo investigar o processo de modificação química da superfície da sílica pelo óxido de titânio para, em seguida, explorar os fenômenos associados à sorção do poli(metiloctilsiloxano) nos poros dessa sílica modificada, visando à preparação de uma fase estacionária para uso em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

A parte experimental foi dividida nas seguintes etapas:

- Modificação química da superfície da sílica com o óxido metálico;
- Sorção do poli(metiloctilsiloxano), variando as quantidades do polímero a serem depositadas na superfície do suporte;
- Avaliação da sílica modificada com óxido metálico e das fases sorvidas através de testes físicos e químicos, tais como análise termogravimétrica, espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear, fluorescência de raio-X, espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X, medidas de área superficial, diâmetro médio e volume específico dos poros;
- Verificação de variáveis, tais como condições físico-químicas da superfície, quantidade e distribuição do polímero nos poros do suporte cromatográfico;
- Enchimento das colunas com o material de recheio;
- Avaliação da estabilidade da fase estacionária líquida sobre o suporte de sílica titanizada de acordo com a radiação gama e ou extração por solventes orgânicos;

- Investigação da estabilidade da fase estacionária frente a fases móveis alcalinas;
- Certificar-se, através de teste de análise elementar, da estabilidade do poli(metiloctilsiloxano) sobre o suporte cromatográfico após tratamento com fases móveis alcalinas e submissão à radiação gama;
- Avaliação do desempenho cromatográfico da sílica modificada inorganicamente após a imobilização da fase estacionária líquida, através da injeção de misturas padrão de solutos neutros e solutos básicos.

III. Experimental**III.1. Equipamentos**

- agitador magnético da Corning Glass Works, modelo PC-351;
- agitador mecânico da Tecnal Equipamentos de Laboratório;
- agitador rototorque Cole-Parmer Instruments Company, modelo 7637;
- analisador elementar Perkin Elmer, modelo 2400;
- analisador termogravimétrico da TA Instruments, modelo TGA-2050;
- balança analítica Fisher scientific, modelo A-250, sensibilidade de 0,0001 g;
- bomba de enchimento da Haskel Inc., com faixa de pressão de 6,9 a 344,8 MPa (1000 a 50.000psi), modelo 51.769;
- cromatógrafo a líquido, marca Shimadzu, constituído de :
 - bomba de alta pressão, tipo pistão recíproca, cabeça dupla, modelo LC-10AD
 - detector de UV/Vis de comprimento de onda variável entre 190-900 nm, com cela de 8 μ L com 10 mm de caminho ótico, modelo SPD-10AV;
 - integrador Hewlett Packard, modelo 3396;
 - injetor Rheodyne, com alça de amostragem de 5 μ L, modelo 8125-095;
- cromatógrafo de permeação em gel, marca Waters, constituído de:
 - bomba de alta pressão, tipo pistão cabeça dupla recíproca, modelo 510
 - detector de índice de refração, modelo 410
 - injetor U6K com alça de amostragem de 15 μ L
 - forno para coluna
 - sistema de aquisição de dados utilizando software Millennium
- espectrofotômetro de infravermelho da Bomem Hartman & Braun, modelo MB com sistema de aquisição de dados da Digital Venturis 466 e impressora HP-Deskjet 660C;

- espectrofotômetro de infravermelho Perkin Elmer, modelo FT-IR 1600
- espectrômetro fotoeletrônico de raios-X, Mcpherson-30, com ânodo de alumínio ($Al_{K\alpha} = 1486,6 \text{ eV}$);
- espectrômetro de ressonância magnética nuclear com polarização cruzada segundo rotação em um ângulo mágico (CP-MAS-NMR) obtidos em 59,62 MHz com rotor de ZrO_2 em um equipamento Brooker AC 300/P.
- estufa Quimis, modelo 317-222;
- fluorescência de raios-X da Tracer X-Ray, modelo Spectrace 5000
- linha de vácuo equipada com bomba de vácuo LeyBold-Heraus;
- medidor de área superficial Micromeritics, Flowsorb II, modelo 2300;
- pH-metro da Digimed, modelo DM-21;
- rotavapor, Flash Evaporator da Buchler Instruments;
- ultrassom da Thornton, modelo T14;

III.2. Material

III.2.1. Reagentes

- acetona p.a., Merck
- ácido nítrico p.a., Quimex
- anilina, p.a. Synth
- benzeno p.a., Synth
- benzonitrila p.a., Carlo Erba
- cloreto de sódio p.a., Synth
- diclorometano p.a., Merck
- *N,N*- dimetilanilina, p.a. Synth
- hidróxido de sódio p.a., Merck

- isopropanol p.a., planta piloto do IQ/UNICAMP
- metanol p.a., Mallinckrodt
- naftaleno p.a., Merck
- nitrato de prata p.a., Vetec
- óxido de titânio p.a., Reidel-de-Raén
- tetrabutóxido de titânio p.a., Aldrich
- tetracloreto de carbono p.a., Synth
- tetracloreto de titânio p.a., Aldrich
- triclorometano, p.a. Merck
- tolueno p.a., planta piloto do IQ/UNICAMP

III.2.2. Gases

- Argônio e nitrogênio de alta pureza, White Martins.

III.2.3. Suporte Cromatográfico

- Sílica Davisil da Alltech Associates, com as seguintes características:
- Tamanho nominal $10\ \mu\text{m}$
- diâmetro de poro $8,7\ \text{nm}$
- volume de poro $0,75\ \text{mL g}^{-1}$
- área superficial $350\ \text{m}^2\ \text{g}^{-1}$

III.2.2. Fase Estacionária Líquida

- poli(metiloctilsiloxano) -(PMOS), produto PS-140 da Hüls America (USA) com as seguintes características (73):
- viscosidade $600\ \text{a}\ 1000\ \text{centistokes à } 25^\circ\text{C}$

- massa molar	6200 u.m.a.
- densidade	0,91 g/cm ³ à 25° C
- índice de refração	1,445 à 25°C
- tensão superficial	30,4 dina/cm

III.2.5. Colunas Cromatográficas

As colunas empregadas têm comprimento de 150 por 3,8 mm de diâmetro interno. As colunas foram confeccionadas na oficina mecânica da UNICAMP, a partir de tubos de aço inoxidável 316L, sem costura, com diâmetros externo e interno de 9,8 e 3,4 mm, respectivamente. Para o polimento da superfície interna da coluna utilizou técnica desenvolvida e utilizada neste laboratório, que consiste em se fixar numa furadeira um fio de aço de diâmetro menor que o da coluna e envolvê-lo com uma esponja de lã de aço (Bombril) e pasta de polimento (Norbrasa). O polimento só é interrompido quando, após a lavagem da coluna com solução de ácido nítrico 50%, detergente, água, acetona e metanol, as paredes internas do tubo não apresentarem qualquer imperfeição visual quando observadas contra a luz.

III.3. Obtenção Do Suporte Cromatográfico

A obtenção da sílica titanizada foi realizada de duas formas diferentes; uma a partir de tetrabutóxido e a outra a partir do tetracloreto de titânio, utilizando sílica Davisil 60, da Alltech Associates, com tamanho de partícula de 10 µm e diâmetro médio de poros de 8,7 nm. A quantidade de titânio em relação a quantidade de sílica foi sempre calculada para 1,0 mmol Ti/ 1g SiO₂.

III.3.1. Sílica Titanizada a partir do Tetrabutóxido de Titânio ($C_{16}H_{36}O_4Ti$)

Sílica previamente seca em linha de vácuo por 4 horas à 150 °C foi transferida para um balão contendo cerca de 400 mL de tolueno p.a., seco com fitas de sódio. Esta mistura foi submetida à agitação mecânica e, então, foi adicionado tetrabutóxido de titânio, sob atmosfera de argônio. O sistema foi mantido em refluxo por 12 horas contínuas e, em seguida, esfriado à temperatura ambiente. A sílica modificada foi lavada sucessivamente por decantação com tolueno, para eliminação do reagente que estivesse em excesso e filtrada sob vácuo, utilizando filtro de teflon Millipore (0,22 μm). Em seguida foi feita uma lavagem com 400 mL de clorofórmio. O material sólido foi então transferido para um balão e colocado em vácuo à 110°C para evaporação do solvente. Uma vez seco e frio, foi adicionado ácido nítrico $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ para a hidrólise. Em seguida à filtração do ácido nítrico, o sólido foi lavado várias vezes com água bidestilada durante a filtração. Finalmente, o sólido foi seco à 110°C em estufa por 48 horas (38). Este suporte, obtido através do tetrabutóxido de titânio, será identificado como SiTB.

III.3.2. Sílica Titanizada a partir do Tetracloreto de Titânio ($TiCl_4$)

A sílica previamente seca em linha de vácuo por 4 horas foi transferida para um balão contendo 400 mL de tolueno p.a. seco com fitas de sódio. Após a homogeneização da mistura, foi adicionado o $TiCl_4$ e o sistema foi mantido em refluxo por 12 horas em atmosfera de argônio e sob agitação mecânica constante. O sólido resultante após lavagens e filtrações sucessivas com tolueno e finalmente com clorofórmio, foi aquecido a vácuo durante 4

horas à 110°C. Após a secagem, passou-se gás amoníaco pelo material seco durante 3 horas. Em seguida o material foi lavado com cerca de 1,5 litros de etanol para eliminação dos íons cloretos presentes e posteriormente com água destilada para completar a hidrólise. O suporte foi então filtrado e seco à 110°C em estufa durante 48 horas. Este suporte obtido a partir do tetracloreto de titânio será identificado como SiTCl.

III.3.3. Preparação das Fases Estacionárias Sorvidas

Inicialmente a sílica titanizada foi ativada à 110°C por 24 horas para remoção da água fisicamente adsorvida e liberação dos grupos titanóis e de possíveis grupos silanóis residuais. O recobrimento da sílica titanizada pela fase estacionária líquida foi feito pelo método de evaporação, que consistiu na dissolução de certa quantidade de PMOS em volume conhecido de diclorometano, escolhido devido a sua baixa volatilidade e alto poder de solubilização do polímero. Em seguida foi feita a adição de quantidade determinada de suporte, que ficou sob agitação lenta por 3 horas, após o qual o solvente foi evaporado à temperatura ambiente. A quantidade de solvente utilizado foi de 60 mL para cada 5 g de fase. Foram preparadas fases estacionárias com percentagens de carregamento de 10, 20, 30, 40 e 50% de PMOS em relação à quantidade total de fase preparada (26, 74).

III.3.4. Fase Estacionária Submetida a Irradiação Gama

Cerca de 3,5 g de fase estacionária com 50% PMOS sorvido foram seladas em condições ambiente em ampolas de vidro Pyrex. As amostras seladas foram então irradiadas por uma fonte de Cobalto-60, tipo úmida, cuja

representação esquemática encontra-se na Figura 7, nas doses de 80 e 120 kGy.

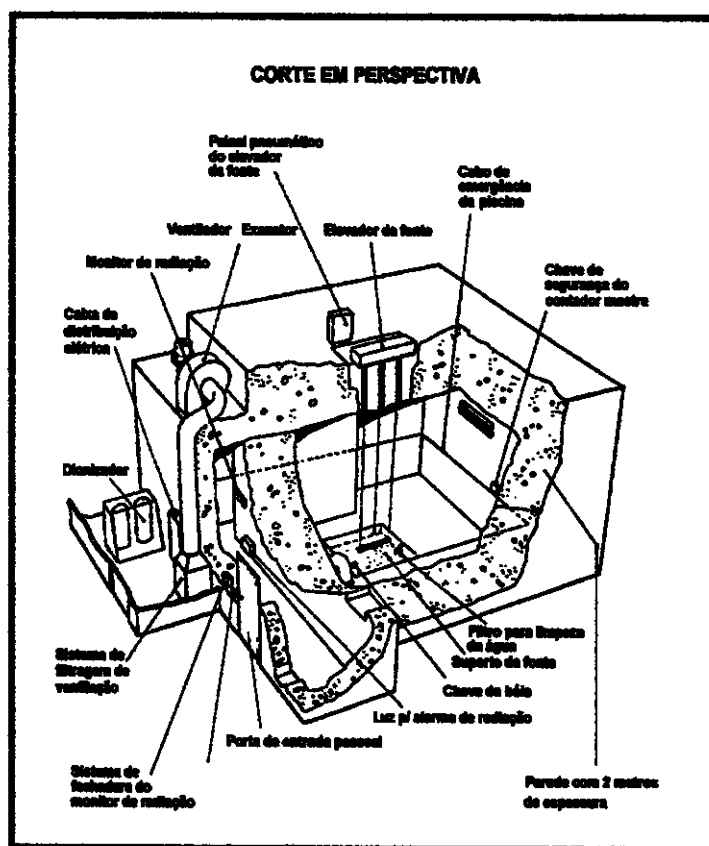


Figura 7. Representação esquemática do irradiador de ^{60}Co .

De acordo com especificações fornecidas pelas IBRAS-CBO S.A., a fonte encontra-se instalada em uma câmara ventilada, construída em concreto de 2 metros de espessura sob todos os ângulos. Quando não está em uso, a fonte encontra-se mergulhada numa piscina com capacidade para trinta e seis mil litros de água desmineralizada circulante, para a blindagem da radiação gama. A placa da fonte contém dois módulos e cada módulo contém cinquenta e quatro cilindros. Os cilindros, por sua vez, são constituídos por dezesseis varetas de

^{60}Co , duplamente encapsuladas em aço inoxidável. A fonte radioativa, ao ser levantada por um sistema pneumático, posiciona-se no centro geométrico das amostras a serem irradiadas que são introduzidas por uma esteira de transporte automático de forma a percorrer uma trajetória determinada (75).

III.4. Avaliação Da Fase Estacionária

III.4.1. III.4.2. Testes Físicos

III.4.1.1. Diâmetro Médio (D_p) e Volume Específico (V_p) dos Poros

As medidas de diâmetro médio e volume específico dos poros foram feitas para a sílica nua, sílica titanizada e suporte com níveis diferentes de PMOS. Volume específico é o volume de poro presente em cada grama do material, mL g^{-1} , e foi determinado pelo método de intrusão de mercúrio.

III.4.1.2. Densidade

A densidade para a sílica nua e para a sílica titanizada foi determinada pelo método do picnômetro, utilizando-se picnometer Sample Data Shett à 23°C.

III.4.1.3. Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica permite medir algumas variações de propriedades físicas como calor e massa, durante o tratamento térmico da amostra. Essas variações dão informações sobre a estabilidade térmica dos materiais, quantifica substâncias, auxilia ou propõe a estrutura de alguns compostos.

Para tanto, foi utilizado aproximadamente 15 mg do material e a análise foi realizada sob atmosfera de argônio, com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ no intervalo de 10 a 1000°C .

III.4.1.4. Medidas de Área Superficial Específica

Para as medidas de área superficial específica do suporte cromatográfico e das fases estacionárias foi utilizado 0,2 g de amostra empregando o método BET(Brunauer, Emmett e Teller), que se baseia na determinação do volume de nitrogênio adsorvido a diferentes pressões, na temperatura do nitrogênio líquido. O resultado é expresso em $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ (76).

III.4.1.5. Espectroscopia no Infravermelho

O espectro de absorção da fase estacionária líquida (PMOS) no infravermelho foi obtido a partir de um filme da amostra em cela de cloreto de sódio, enquanto para as fases estacionárias sólidas com diferentes níveis de carregamento de PMOS, os espectros foram obtidos pela prensagem da amostra sob a forma de pastilhas com brometo de potássio no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} . Esses espectros permitiram uma avaliação qualitativa do grau de recobrimento dos grupos hidroxilas do suporte pelo PMOS, bem como a evaporação de PMOS sobre o suporte.

III.4.1.6. Fluorescência de Raios-X

O teor de titânio na sílica foi determinado através de fluorescência de raios-X. A curva analítica utilizada foi obtida a partir do óxido de titânio(IV) numa faixa de concentração de 1 a 10%.

III.4.1.7. Espectroscopia Fotoeletrônica de Excitação por Raios-X (XPS)

O XPS é uma poderosa técnica espectroscópica de superfícies, sendo hoje empregada na análise de vários tipos de amostras como metais, polímeros, cerâmicas, compósitos, semicondutores e amostras biológicas na forma de lâminas, fibras, pós, partículas ou filmes. A identificação dos elementos presentes na superfície é feita diretamente pela determinação das energias cinéticas dos picos dos fotoelétrons. A intensidade (área integrada do pico fotoelétrico) é proporcional ao número de átomos no volume detectado, permitindo-se, portanto, obterem informações sobre a composição da superfície (77, 78). A fonte de energia empregada para excitar os elétrons do nível abaixo da camada de valência foi raios-X $Al_{K\alpha}$ ($h\nu = 1486,6$ eV).

III.4.1.8. Cromatografia por Permeação em Gel

A cromatografia de permeação em gel é usada para separar amostras de tamanhos diferentes e obter informações de distribuição da massa molar dos polímeros. A técnica de GPC consegue, através de cálculos matemáticos, estimar a média das seguintes massas molares:

- massa molar média numérica (M_n);
- massa molar média ponderal (M_w);
- massa molar média (M_z);
- massa molar média viscosimétrica (M_v) e a
- polidispersividade (D), que é calculada como M_w/M_n

A distribuição das massas molares está ilustrada, para uma curva hipotética, na Figura 8.

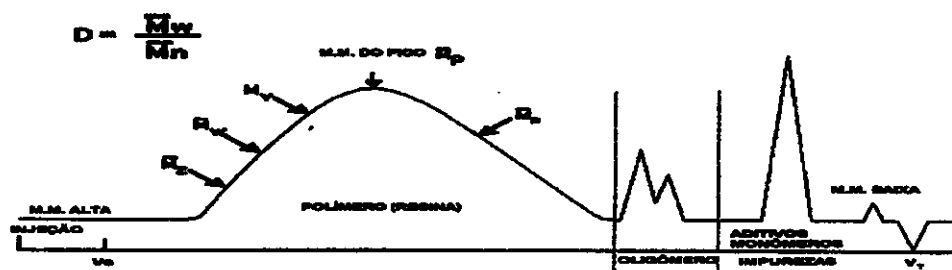


Figura 8. Distribuição das massas molares estimadas em CPG (79)

Essa técnica foi utilizada para determinação da massa molar e a polidispersividade do poli(metiloctilsiloxano). As colunas utilizadas foram Ultrastyrigel 10^3 , 10^4 , 10^5 , de $7,8 \times 300$ mm. Foram injetados $250 \mu\text{L}$ de amostra dissolvida em tolueno, que também foi usado como fase móvel a uma vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, à temperatura de 40°C , tanto para a coluna quanto para o detector de índice de refração. As massas molares e a polidispersividade para o PMOS da fase estacionária obtida a partir do tetrabutóxido de titânio (SiTB) sem extração e/ou irradiação, e para o mesmo recheio extraído em diclorometano e irradiado à 120 kGy , foram determinadas por cromatografia de permeação em gel. As amostras de PMOS foram coletadas durante o enchimento da coluna cromatográfica, no qual o excesso do polímero presente no recheio foi lixiviado pelo metanol usado como solvente propulsor. A solução recolhida foi colocada em capela para evaporação do solvente à temperatura ambiente e o PMOS dissolvido em tolueno p.a. a $0,5\%$ (m/v). Na determinação foram utilizadas colunas Styragel HT 3 (500-3000), HT 4 (5000 a 600.000) e HT 5 (50.000 a 4×10^6) da Waters, com tolueno (Merck) à $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ como

fase móvel, 250 μL amostra, detector de índice de refração e temperatura de 40 $^{\circ}\text{C}$ tanto para a coluna quanto para o detector.

III.4.1.9. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear

A espectrometria de ressonância magnética nuclear foi utilizada para identificação das espécies presentes no suporte cromatográfico e na fase estacionária, monitorando-se dessa forma o recobrimento da sílica titanizada pela sorção do PMOS. Os espectros de ^{29}Si CP-MAS-NMR (ressonância magnética nuclear com polarização cruzada segundo rotação em ângulo mágico) apresentados aqui foram obtidos em 59,62 MHz, com um rotor de ZrO_2 contendo cerca de 1,0 g de amostra. A rotação segundo ângulo mágico utilizou 4000 Hz de velocidade de rotação. Os deslocamentos químicos obtidos nos espectros de ^{29}Si foram determinados a partir do tetrametilsilano com tempo de polarização cruzada de 5 ms.

III.4.2. Testes Químicos

III.4.2.1. Análise Elementar

Amostras de sílica titanizada, sílica titanizada contendo polímero sorvido com carregamentos de 10 a 50% e as fases estacionárias extraídas das colunas após avaliação cromatográfica foram submetidas à análise elementar para determinação do teor total de carbono. Esta determinação é feita através de combustão, onde o carbono é convertido em gás carbônico (CO_2) e medido em função de sua condutividade térmica.

III.4.2.2. Extração por Solventes

Este teste teve como objetivo determinar a quantidade de polímero que pode ser removido da fase estacionária - uma vez já sorvido - por extração com solventes de diferentes polaridades e nos quais o polímero apresenta solubilidade diferente. O poli(metiloctilsiloxano) é pouco solúvel no metanol, moderadamente solúvel no tolueno e solúvel em diclorometano.

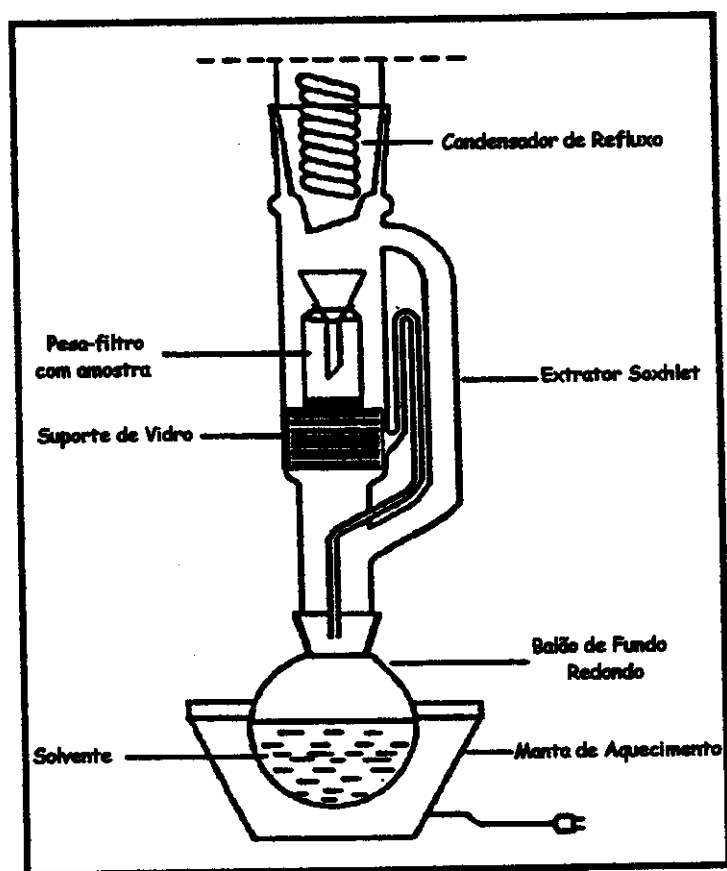


Figura 9. Sistema utilizado na extração por solventes.

O método utilizado foi uma modificação (74) daquele proposto por SANCHEZ et alli (80), que consistiu em pesar aproximadamente 0,4 g de fase estacionária

num pesa filtro de 30 mL e levar à estufa à 110°C até peso constante. Em seguida, o pesa-filtro foi inserido no extrator Soxhlet de 250 mL sobre um suporte de vidro, como mostra a Figura 9. Ao pesa-filtro foi adaptado um funil de vidro para melhor contato do solvente condensado com a amostra. Foram feitas extrações sucessivas das amostras com metanol, tolueno e diclorometano em refluxo durante 6 horas com cada solvente. Terminada cada extração, o solvente em excesso foi retirado com uma pipeta de Pasteur e o material úmido foi colocado em estufa à 110°C até peso constante, antes da próxima extração.

III.4.2.3. Determinação da Concentração dos Grupos Hidroxilas

A determinação da concentração dos grupos hidroxilas na superfície do suporte e da fase estacionária com diferentes níveis de carregamento foi feita por titulação potenciométrica de acordo com o método de KHURANA e HO(81), segundo o qual 0,5 g de amostra foram suspensos em 10 mL de solução de NaCl 10% e titulados com NaOH 0,01 mol L⁻¹. A adição do cloreto de sódio faz-se necessária pois os grupos hidroxilas da superfície não são tituláveis em solução aquosa. O NaCl aumenta a ionização dos grupos hidroxilas o suficiente para serem titulados. Para as fases estacionárias, além do NaCl, foram adicionados 3 mL de isopropanol. As titulações foram conduzidas até pH 9,0, utilizando-se um eletrodo de vidro para medir o pH e um de calomelano como referência.

III.4.3. Testes Cromatográficos

III.4.3.1 Bomba de Enchimento das Colunas Cromatográficas

Para o enchimento das colunas cromatográficas foi utilizado uma bomba de enchimento da Haskel Inc. e um reservatório de suspensão de 32 mL. A metodologia consistiu em, primeiramente, verificar a presença de vazamentos no sistema (que leva a baixa eficiência) antes de se iniciar qualquer enchimento de colunas. Para isso, foi feito o acoplamento da coluna cromatográfica com filtro e demais acessórios apenas na extremidade inferior (Figura 10) ao reservatório de suspensão que, em seguida, foi enchido com metanol filtrado, e foi fechado o sistema (Figura 11).

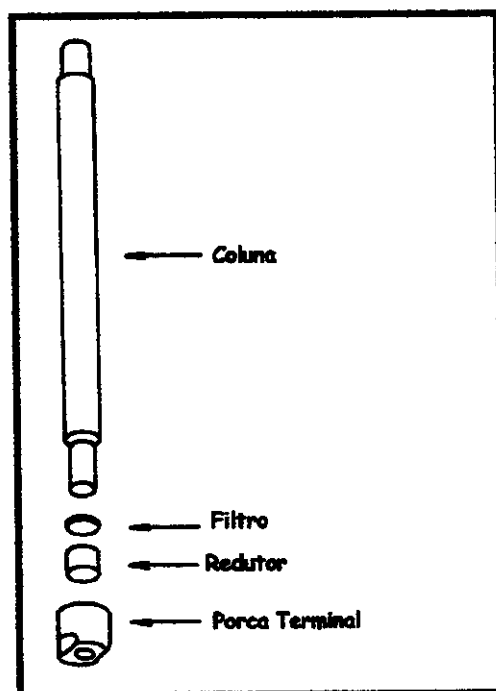


Figura 10. Esquema de uma coluna cromatográfica

Logo a seguir, o sistema foi pressurizado à pressão desejada, ajustando-se a válvula de controle de pressão do gás. Então, com as válvulas de solvente propulsor e de pressão do gás abertas, a bomba foi ligada, eliminando-se

possíveis bolhas de ar presentes no sistema e ajustado para a ausência de vazamentos. Feito isto, as válvulas de solvente propulsor e de controle do gás nitrogênio foram fechadas, para que se pudesse retirar o solvente propulsor contido na coluna e no reservatório de suspensão. A etapa seguinte foi o enchimento da coluna.

III.4.3.2. Enchimento das Colunas Cromatográficas

A suspensão da fase estacionária no solvente de suspensão escolhido foi mantida sob agitação por 16 horas antes do enchimento e transferida para o reservatório de suspensão, completando-se o volume com o solvente de suspensão. Depois de conectado o reservatório de suspensão à bomba e a coluna, foram abertas as válvulas de solvente propulsor e de controle do gás nitrogênio, deixando-se passar 80 mL de solvente, constituído de uma mistura do solvente de suspensão e de metanol. Após isso, a válvula de solvente propulsor foi fechada para que o metanol parasse de gotejar na saída da coluna. Quando isto ocorreu, deram-se mais 3 pulsos de 20 segundos (abrindo a válvula de solvente) para se obter um melhor assentamento da fase estacionária no leito da coluna. A válvula de controle do gás foi então fechada, permitindo que o sistema fosse despressurizado, o que geralmente ocorre em aproximadamente 20 minutos (Figura 11). A coluna foi desconectada, e os acessórios adaptados a outra extremidade, seguida de seu condicionamento.

Este trabalho utilizando poli(metiloctilsiloxano) sorvido sobre sílica titanizada vem dar prosseguimento a trabalhos do grupo onde foi utilizado como suporte cromatográfico apenas a sílica.

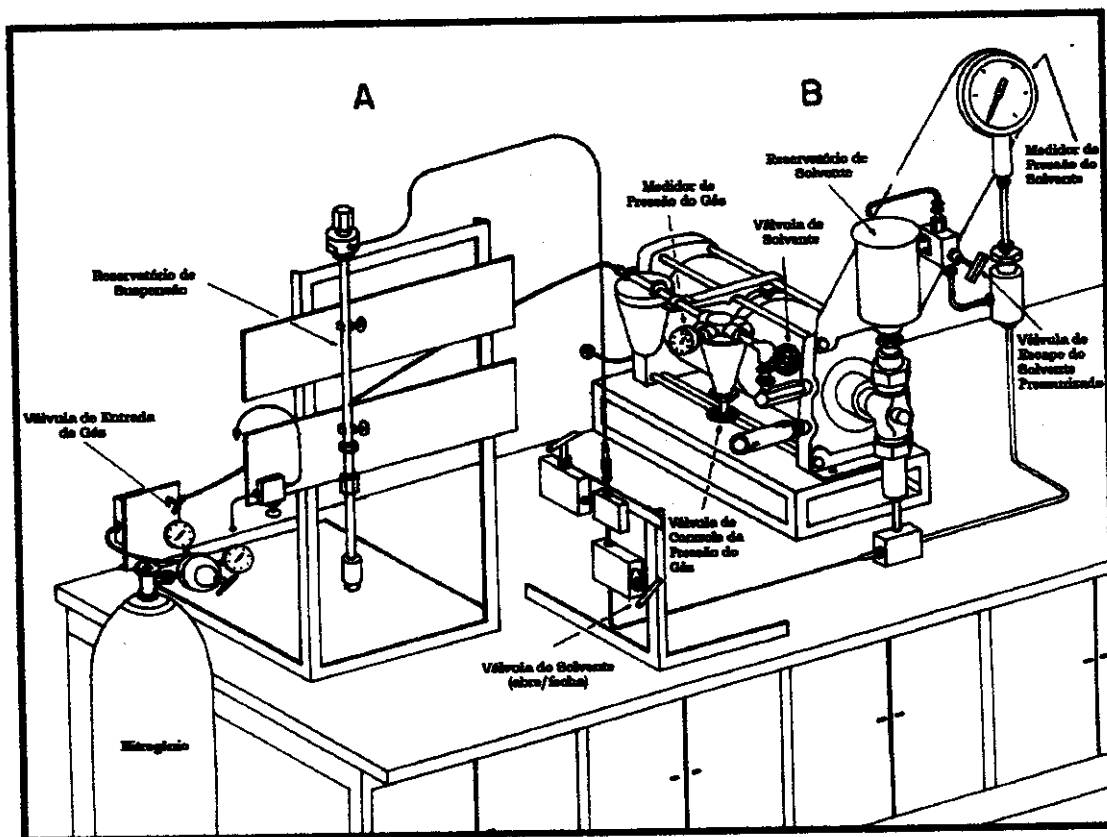


Figura 11. Esquema (A) reservatório de suspensão e (B) bomba de enchimento.

Muitas das condições cromatográficas aqui adotadas, como por exemplo: solvente propulsor, solvente de suspensão, pressão de enchimento, concentração da suspensão, componentes e composição da fase móvel, níveis de carregamento de polímero e dose de irradiação foram baseadas em um trabalho(26) que utilizou o mesmo tipo de sílica (Davisil) e fase estacionária (PMOS) empregada neste estudo.

Quanto ao solvente de suspensão, aborda uma escolha delicada pois a tendência é de no futuro eliminar-se por completo a utilização de solventes completamente halogenados e em seguida os parcialmente

halogenados. Muitos dos solventes ou misturas de solventes testados que formaram uma boa suspensão com a sílica falharam ao se utilizar a sílica titanizada. Um artigo publicado em 1997 (82) sugeriu uma alternativa ao tetracloreto de carbono (CCl_4) usado até então no laboratório (26). Esta alternativa, aqui avaliada, é a mistura de clorofórmio:metanol 90:10 (v/v).

Ao se considerar pré-requisitos, tais como grau de pureza, baixa viscosidade, toxicidade e custos, na escolha da fase móvel utilizada em cromatografia de fase reversa, o solvente selecionado foi o metanol tanto para a fase móvel como para propulsão. A pressão de enchimento que foi otimizada foi de 42 MPa (6000 psi). A concentração da suspensão para o enchimento das colunas preparadas a partir da sílica titanizada foi de 10% (m/v), determinada em trabalho anterior para sílica irregular (26).

III.4.3.3. Condicionamento das Colunas Cromatográficas

É necessário que se faça o condicionamento da coluna cromatográfica antes de sua utilização, para que se obtenha equilíbrio entre a fase estacionária e a fase móvel escolhida, não ocorra flutuação na linha de base ou irreprodutibilidade nos tempos de retenção dos compostos eluídos. Para o condicionamento das colunas foram utilizadas vazões crescentes de fase móvel (mistura de metanol e água) de 0,2 a 0,6 mL min⁻¹ com incrementos de 0,2 mL min⁻¹ durante 4 horas, sem acoplar a coluna ao detector, evitando-se assim danos à cela de detecção.

III.4.3.4. Avaliação Das Colunas Cromatográficas

III.4.3.4.1. Cálculos dos Parâmetros Cromatográficos

Os parâmetros cromatográficos foram calculados a partir de uma mistura de solutos de polaridades diferenciadas tais como, acetona, benzonitrila, benzeno, tolueno e naftaleno, que são geralmente utilizados na caracterização de colunas de fase reversa. Os solutos foram diluídos a partir de uma solução padrão na própria fase móvel MeOH: H₂O e armazenados em geladeira. Todos os resultados cromatográficos aqui apresentados foram obtidos através da injeção de 5 µL de amostra em triplicata e detecção a 254 nm com velocidade de papel proporcional à vazão, de forma que permitisse a medida das larguras dos picos à meia altura e a 10% da altura, para os cálculos dos parâmetros cromatográficos. A composição da fase móvel MeOH:H₂O variou de 60:40 a 70:30 (v/v) e foi determinada após a avaliação cromatográfica das colunas trabalhadas inicialmente.

O tempo morto da coluna, representado por t_m , foi determinado pelo "sinal" do metanol que é um dos constituintes da fase móvel. O sinal é devido a diferença no índice de refração relacionado a injeção que causa um desvio na linha de base como mostrará os cromatogramas apresentados.

Para os componentes das misturas analisadas, foram calculados os valores de eficiência (pratos/metro), assimetria (A_s), resolução (R_s), fator de separação(α) e fator de retenção (k), considerando-se todos os componentes da amostra. Os resultados dos parâmetros cromatográficos apresentados foram corrigidos de acordo com as estimativas de desvio padrão absoluto calculados em planilha eletrônica.

III.4.3.4.2. Teste com Misturas Básicas

A fim de avaliar as fases estacionárias preparadas frente a misturas básicas foram utilizadas 3 amostras de solutos básicos, disponíveis em nosso laboratório:

- a) amostra 1: anilina e *N,N*- dimetilanilina;
- b) amostra 2: cianazina, simazina e atrazina (83);
- c) amostra 3: sulfametoxazol, fenacetina e cafeína.

As amostras foram diluídas a partir de uma solução padrão em metanol, armazenadas em geladeira e eluídas na fase móvel MeOH:H₂O cuja composição e pH será discriminado nos cromatogramas a serem apresentados.

III.4.3.4.3. Determinação da Vazão Através da Curva de van Deemter

A vazão de fase móvel foi determinada a partir da curva de van Deemter, segundo o qual, existe uma vazão ótima onde a eficiência de uma coluna é máxima. A vazão da fase móvel determinada a partir da curva de van Deemter, inicialmente apresentada em 0,2 mL min⁻¹, foi alterada para 0,3 mL min⁻¹ com objetivo de diminuir o tempo de retenção e, conseqüentemente, o tempo de análise, sem perda significativa na eficiência das colunas cromatográficas.

III.4.3.4.4. Teor de Poli(metiloctilsiloxano) Após as Etapas de Enchimento e Utilização das Colunas

Durante o enchimento das colunas cromatográficas foi observado que existe um lixiviamento do PMOS pelo solvente propulsor, a partir do

carregamento inicial. Então foi utilizada a solução que passou pela coluna durante o enchimento para determinar o nível de carregamento final de polímero. A massa de recheio necessária para enchimento das colunas foi de 1,7 g. Para avaliação, foram pesados 2,4 g de recheio com PMOS sorvido, que foram mantidos em suspensão aos níveis de 10% (m/v) por 16 horas. Após o enchimento e retirada a coluna, sobra uma certa quantidade de recheio no reservatório de suspensão, que é então recolhida, sendo o solvente evaporado a temperatura ambiente e o teor de carbono determinado por análise elementar. Após a utilização da coluna cromatográfica, essas foram esvaziadas e o recheio recolhido e avaliado para verificar se o teor de PMOS foi alterado entre o enchimento e a eluição cromatográfica. A percentagem de PMOS encontrada nas diferentes fases estacionárias foi calculada através de:

$$\%C = (m_c / m_{\text{amostra}}) \times 100 \quad [12]$$

onde m_c = massa de carbono (obtida experimentalmente)

Sabendo-se que a $m_{\text{amostra}} = m_{\text{suporte}} + m_{\text{PMOS}}$ = massa de amostra e que 62% da massa do polímero refere-se a carbono, tem-se que:

$$m_{\text{PMOS}} = (m_c / 0,62) \Rightarrow \%PMOS = (m_{\text{PMOS}} / m_{\text{amostra}}) \times 100 \quad [13]$$

Colunas recheadas com sílica nua após a sorção de 50% de PMOS foram eluídas e avaliadas para comparação com as colunas recheadas utilizando sílica titanizada como suporte.

III. 4.3.4.5. Avaliação Preliminar dos Parâmetros Cromatográficos das Fases Estacionárias Submetidas a Irradiação Gama

O efeito da radiação gama com e sem extração para o SiTB e o SiTCl foi determinado. Para isso, as colunas (150 x 3,8 mm) foram recheadas com 50% de polímero, usando CCl_4 como solvente de suspensão a 10%. A amostra padrão foi eluída em $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ 60:40 (SiTB) e 70:30 (SiTCl) v/v. Para certificar-se da estabilidade do PMOS sobre o suporte cromatográfico nos dois tipos de recheio, fêz-se análise elementar, antes e após a utilização da coluna, para determinação do teor de poli(metiloctilsiloxano).

III.4.3.4.6. Estabilidade Química da Fase Estacionária Imobilizada.

Cerca de 3,5 g da fase estacionária obtidos a partir dos dois suportes cromatográficos foram irradiados a 120 kGy, colocados em pesa filtro e feita a extração em Soxhlet durante 6 horas, utilizando diclorometano (CH_2Cl_2) como solvente, como ilustrado na Figura 8. Depois da extração, o material foi seco em estufa à 110°C por 24 horas, esfriado em dessecador e usado para enchimento de colunas. O tetracloreto de carbono foi utilizado como solvente de suspensão, cuja concentração foi de 10% (m/v). A pressão de enchimento foi de 42 MPa. Para avaliação quanto à estabilidade química foi utilizado a fase móvel neutra $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ 70:30 v/v e a fase móvel alcalina $\text{MeOH}:\text{NaOH}_{(\text{aq})}$, pH 9,0, 12,0 e 13,0, calculando-se os parâmetros N , k , R_s , α e A_s , ao injetar a mistura padrão. Para todas as colunas avaliadas o teste foi efetuado na coluna recém recheada, isto é, logo após o enchimento. Apenas o teste a pH 13,0 foi realizado numa coluna que já havia sido submetida a 10.000 vezes o volume da coluna com fase móvel em pH neutro para os dois tipos de

suporte. O teste de estabilidade química foi obtido pela passagem de fase móvel à $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ até 10.000 vezes o volume da coluna. O volume da coluna foi calculado por:

$$V_c = \pi \cdot r^2 \cdot L \quad [14]$$

Onde: $\pi = 3,14$;

r = raio da coluna ($0,5 \times$ diâmetro da coluna);

L = comprimento da coluna;

V_c = volume da coluna.

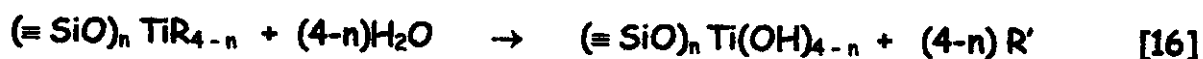
Uma vez realizados os testes de estabilidade química frente às fases móveis de pH 7 e 12 as colunas foram esvaziadas e a fase estacionária recolhida para que secasse à temperatura ambiente. O teor de titânio foi determinado por fluorescência de raio-X a fim de se determinar a estabilidade da ligação titânio - sílica em fases móveis alcalinas.

III.4.3.4.7. Armazenamento de Colunas

As colunas enchidas com SiTB e SiTCl irradiadas ou não, foram avaliadas cromatograficamente com a mistura padrão através da relação entre eficiência e o tempo de armazenamento calculado para o pico do naftaleno. As colunas foram armazenadas em fase móvel MeOH:H₂O 70:30 v/v e seus parâmetros cromatográficos calculados e comparados a cada três meses.

IV. Resultados e Discussões**IV.1. Síntese do Suporte Cromatográfico**

Este trabalho inicialmente visava à obtenção de sílica titanizada usando como reagente apenas o tetrabutóxido de titânio. Optou-se, entretanto, por fazer a síntese utilizando o tetracloreto de titânio para comparação. As reações químicas envolvidas são representadas por:



onde:

R = íons Cl^- ou $(\text{BuO})^-$;

R' = HCl ou BuOH

A equação química apresentada não difere para a síntese realizada através do tetrabutóxido salvo pela substituição dos íons cloreto pelos íons butóxido.

IV.2. Testes Físicos**IV.2.1. Diâmetro Médio (D_p) e Volume Específico (V_p) dos Poros**

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos na determinação das medidas de diâmetro médio e volume específico de poros para a sílica nua, titanizada e com carregamentos de 10, 20, 30, 40 e 50% de PMOS. Como observado, à medida que se aumenta a percentagem de polímero sobre a sílica titanizada o volume específico dos poros diminui em até 55,4%, pois ocorre o preenchimento parcial dos poros pela fase estacionária líquida, reduzindo a penetração do mercúrio.

Tabela 1. Valores de D_p e V_p para a sílica nua, titanizada e com diferentes carregamentos de PMOS Sorvido Mecanicamente.

Amostra	D_p (nm)	V_p (mL g⁻¹)
SiO₂	13,3	1,05
SITCI	8,1	1,16
SITCI + 10% PMOS	8,3	1,00
SITCI + 20% PMOS	8,5	0,93
SITCI + 30% PMOS	9,1	0,75
SITCI + 40% PMOS	9,3	0,68
SITCI + 50% PMOS	9,2	0,52

Quanto ao diâmetro médio dos poros, foi observado um ligeiro aumento com o carregamento de PMOS devido ao entumescimento dos poros, concluindo-se daí, que o material de enchimento de colunas encontra-se dentro do intervalo sugerido pela literatura (5), segundo o qual o D_p da sílica em CLAE deve estar entre 6 e 10 nm, e o V_p entre 0,5 e 1,5 mL g⁻¹.

IV.2.2. Densidade

Os valores de densidade encontrados à 23°C para a sílica nua e para a sílica titanizada (SiTB) foram 2,16 e 1,94 g cm⁻³, respectivamente.

IV.2.3. Análise Termogravimétrica

As curvas termogravimétricas da sílica modificada inorganicamente a partir dos dois reagentes utilizados foram comparadas e estão apresentadas na Figura 12. A partir destes gráficos foram retirados os dados de percentagem de perda de massa e a faixa de temperatura na qual

houve a perda. De acordo com o que se observa, as curvas são semelhantes para os dois suportes preparados. Quando o material foi submetido ao aquecimento, sofreu perda de massa de 2,5% em cerca de 100°C que é atribuída ao processo de eliminação da água fisicamente adsorvida ou ligada aos grupos hidroxilas por pontes de hidrogênio.

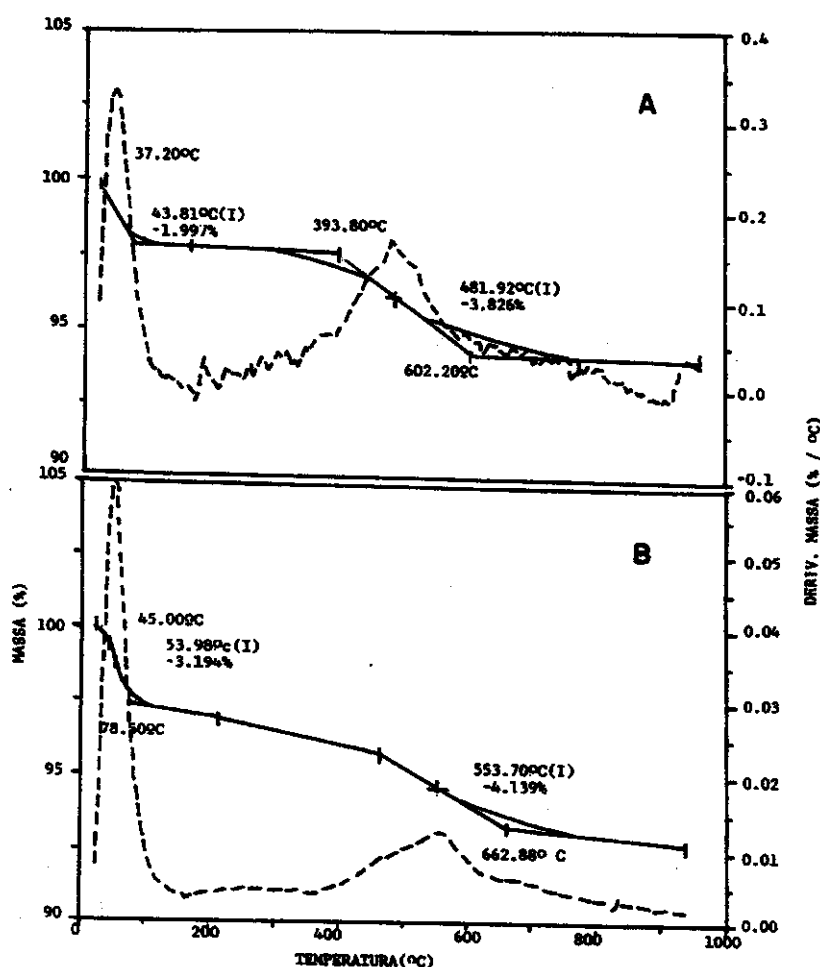


Figura 12. Curvas termogravimétricas para SiTB (A) e SiTCl (B).

As perdas de massa em temperaturas mais altas, 3,8% (SiTB) e 4,1% (SiTCl) entre 200 e 1000°C, são atribuídas à perda de água quimicamente adsorvida, ou seja, a desidratação dos grupos titanóis ou silanóis residuais, dando origem à formação dos grupos siloxanos nas ligações Si-O-Ti. Segundo BERTHOD (6), esta desidratação na sílica ocorre entre 600 e 800°C para sílica nua.

IV.2.4. Medidas de Área Superficial Específica

Como pode ser observado na Tabela 2, a sílica modificada pelo óxido de titânio apresentou diminuição nas áreas superficiais em relação à superfície não modificada, decréscimo este maior quando a síntese foi a partir do TiCl_4 . Esse efeito foi atribuído ao fechamento dos poros menores durante as reações de síntese (37). Os resultados de área superficial encontrados para os dois recheios são como esperado, inferiores aos da sílica nua ($383 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), sendo a área encontrada para o SiTCl inferior à do SiTB, 274 e $360 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, respectivamente. Esse decréscimo é justificado pelo maior teor de titânio no lote preparado, 5,1% no SiTCl em comparação aos 4,0 % no SiTB, confirmando que os átomos de titânio bloqueiam os poros da sílica. Analisando estes resultados, de acordo com a quantidade de polímero, foi observado que, quanto maior o carregamento do polímero, menor foi a área superficial, devido ao preenchimento dos poros pelo PMOS. No caso da fase estacionária com 50% de PMOS sobre SiTB_4 , não se conseguiu fazer a leitura, provavelmente porque a superfície deveria estar totalmente recoberta com o excesso de polímero presente, impedindo a adsorção do nitrogênio.

Tabela 2. Área superficial específica ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) da sílica titanizada com diferentes carregamentos de PMOS sem extração.

PMOS (%)	0	10	20	30	40	50
SITB	360	242	167	52	0,48	-
SITCI	274	205	141	34	1,48	0,23

para a sílica nua o valor encontrado foi de $383 \text{ m}^2 \text{g}^{-1}$.

O gráfico apresentado na Figura 13 mostra a relação entre a área superficial específica e a massa específica do PMOS ($\bar{m}_{\text{PMOS}}$). A massa específica é definida como a massa de PMOS contida num grama de sílica titanizada. Segundo o gráfico, existe uma relação quase linear entre os dois parâmetros avaliados até 30% de PMOS e, a partir de 40% de polímero, existe o recobrimento total da superfície, nos dois suportes investigados.

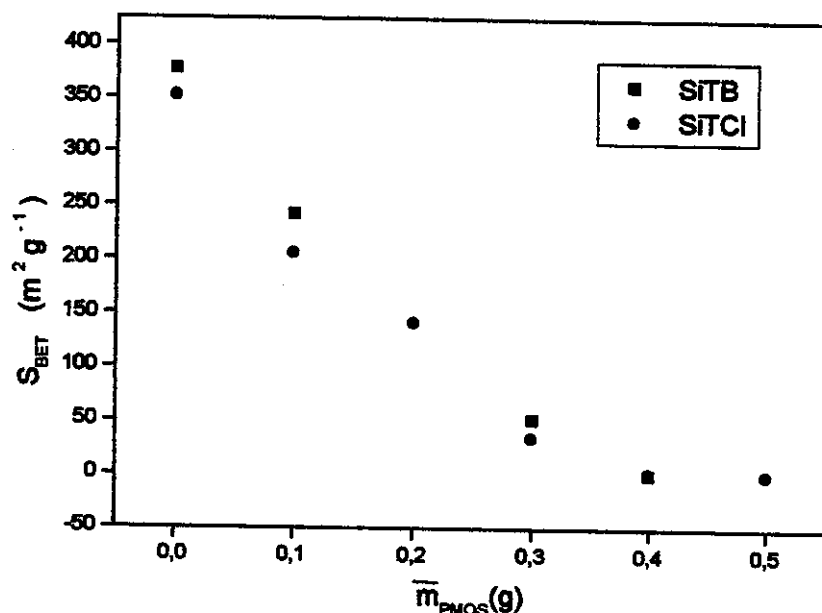


Figura 13. Relação entre a área superficial e a massa específica do PMOS.

IV.2.5. Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros de infravermelho para o PMOS, sílica nua, sílica titanizada e das fases preparadas em níveis diferentes de carregamento podem ser vistos nas Figuras 14 e 15. Os espectros no infravermelho do PMOS apresentaram, como bandas principais, um sinal em cerca de 2900 cm^{-1} característico dos grupos metila, outra banda em torno de 1460 cm^{-1} , proveniente da deformação de C-H, uma banda em cerca de 1258 cm^{-1} característica de ligações $\equiv\text{Si-O-}$ e um duplete na região de $1020\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ atribuído aos grupos siloxanos. Tanto os infravermelhos da sílica nua, quanto os da sílica titanizada, apresentaram bandas em torno de 3400 cm^{-1} , proveniente tanto das vibrações dos grupos hidroxilas ligados por pontes de hidrogênio à água fisicamente adsorvida, como dos grupos hidroxilas geminais, e uma outra em cerca 1100 cm^{-1} , atribuída aos siloxanos, além do sinal característico dos silanóis livres na região de 970 cm^{-1} (9). O espectro de infravermelho da Figura 14C para a sílica titanizada apresentou um sinal em torno de 2968 cm^{-1} característico de ligações C-H, indicando a presença de tetrabutóxido na superfície do suporte sem ter sofrido hidrólise, confirmando o valor de carbono obtido na análise elementar da mesma amostra. Os espectros das fases estacionárias foram semelhantes para ambas as preparações, com os níveis provenientes do PMOS aumentando de intensidade com a percentagem de carregamento, enquanto os sinais provenientes dos grupos silanóis do suporte tiveram sua intensidade de sinal diminuída. A banda referente aos silanóis livres, na região de 970 cm^{-1} diminuiu de 10 para 20% de PMOS, sendo finalmente suprimida a partir de 30% de carregamento, sugerindo que, a partir daí, o poli(metiloctisiloxano) esteja recobrindo os grupos ativos do suporte.

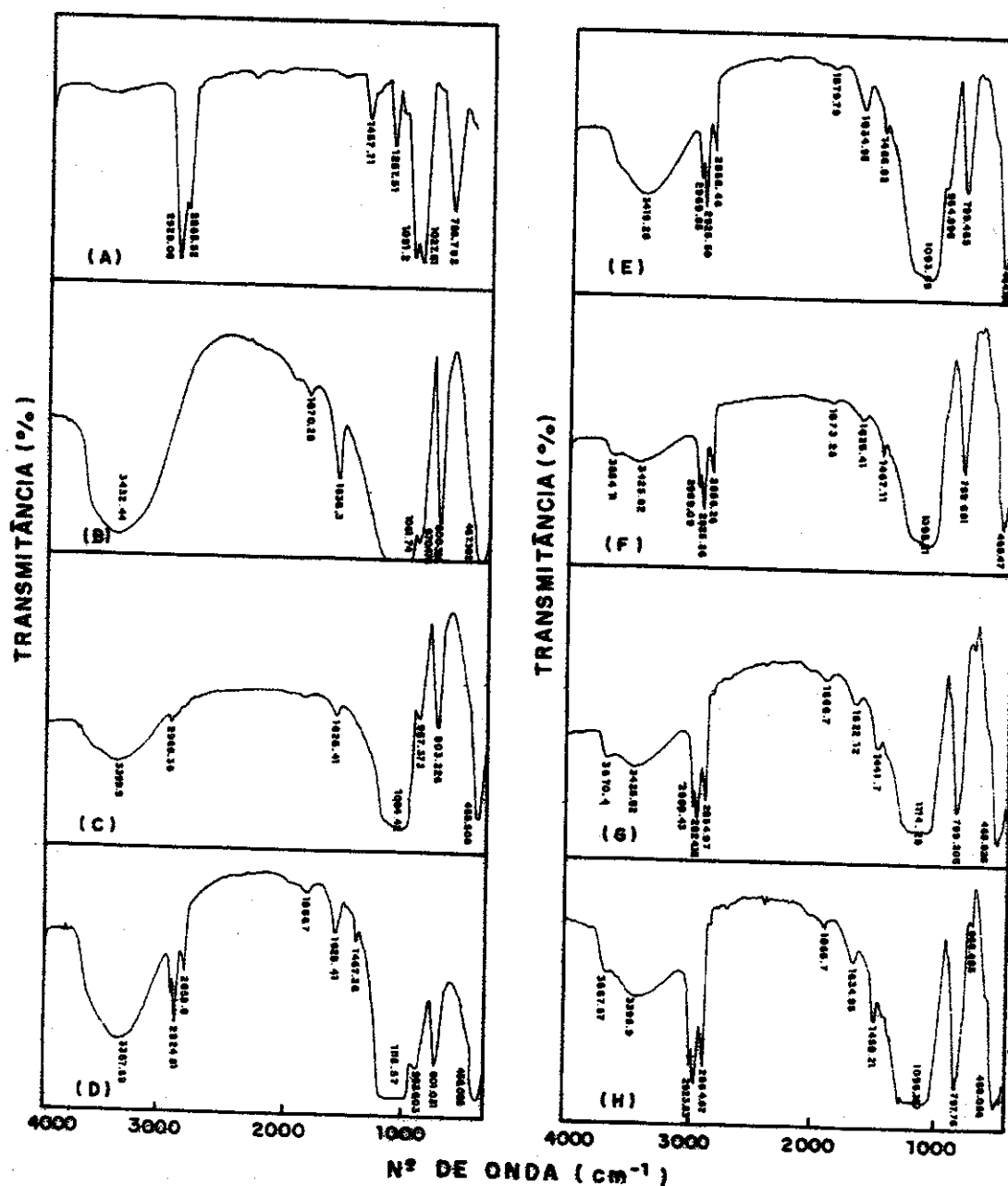


Figura 14. Espectros no Infravermelho para o suporte obtido a partir do tetrabutóxido de titânio (SiTB). (A) PMOS; (B) sílica nua; (C) sílica titanizada; (D) suporte + 10% PMOS; (E) suporte + 20% PMOS; (F) suporte + 30% PMOS; (G) suporte + 40% PMOS; (H) suporte + 50% PMOS.

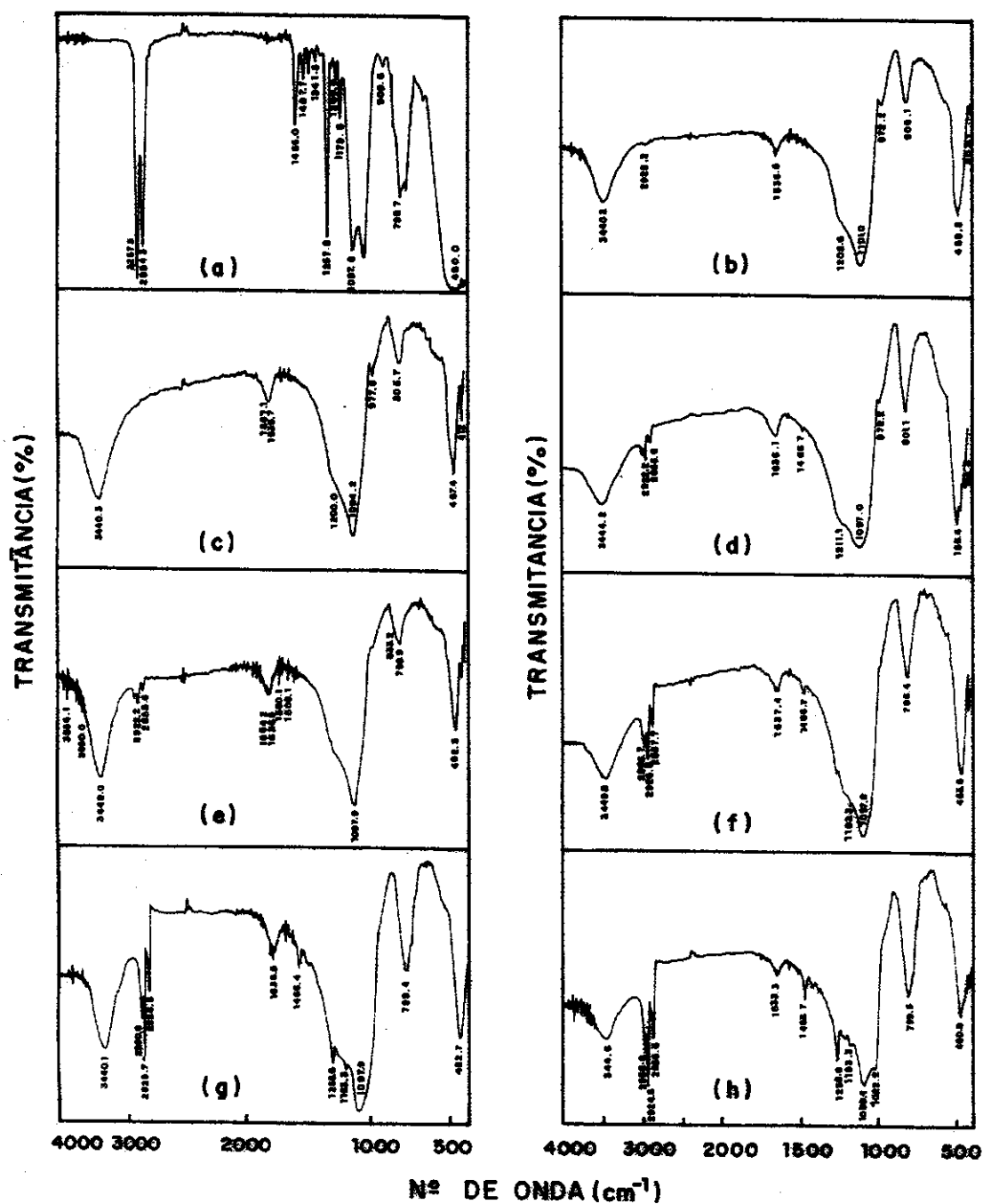


Figura 15. Espectros no Infravermelho para o suporte obtido a partir do tetrabutóxido de titânio (SiTCl). (a) PMOS; (b) sílica nua; (c) sílica titanizada; (d) suporte + 10% PMOS; (e) suporte + 20% PMOS; (f) suporte + 30% PMOS; (g) suporte + 40% PMOS; (h) suporte + 50% PMOS.

Os resultados encontrados estão em concordância com os obtidos no nosso laboratório usando a sílica nua como suporte, exceto pelo sinal referente aos silanóis livres, que só desapareceram a partir de 40% de carregamento (84).

IV.2.6. Fluorescência de Raios-X

O teor de titânio encontrado para o suporte de sílica titanizada a partir dos dois reagentes são mostrados na Tabela 3. Os valores obtidos mostraram que a síntese a partir do tetracloreto permite que uma maior quantidade de titânio seja ligada quimicamente a sílica. O valor de 2,35% de carbono encontrado no suporte obtido a partir do tetrabutóxido de titânio pode ser devido à ligação do reagente com grupos silanóis da sílica e talvez seja o responsável pela menor quantidade de titânio presente.

Tabela 3. Teor de Titânio no Suporte (%).

Amostra	SiTB	SiTCI
% Titânio	$4,0 \pm 0,1$	$5,1 \pm 0,2$
% Carbono	$2,35 \pm 0,07$	$0,70 \pm 0,03$

IV.2.7. Espectroscopia Fotoeletrônica de Excitação por Raios-X (XPS)

A espectroscopia fotoeletrônica de excitação por raios-X foi utilizada para determinar as razões atômicas dos elementos presentes na superfície do suporte e suas energias de ligação. A Tabela 4 mostra os resultados para o suporte preparado a partir do tetracloreto de titânio. Os dados obtidos para o SiTB não diferem dos dados apresentados (não ilustrados). O espectro de XPS (Figura 16) apresentou um pico em 458,4 eV, que foi atribuído ao elétron $2p_{3/2}$ do titânio. Esta energia de ligação é

semelhante à do óxido de titânio (IV) (rutilo ou anatase) onde a energia de ligação é de 458,8 eV (85). O espectro também mostrou um pico em 532,6 eV, atribuído ao oxigênio que, ao sofrer deconvolução pelo método de Gaussianas, resultou em dois picos: um em 532,5 eV e o outro em 529,8 eV.

O pico com maior energia foi atribuído como sendo dos oxigênios ligados aos átomos de silício (O_1) e o de menor energia como sendo dos oxigênios ligados aos átomos de titânio (O_2). A razão atômica encontrada para os elementos na superfície do SiTCl foi: O/Si de 2,2 e Ti/Si de 0,092 com um erro de $\pm 20\%$. Para o suporte SiTB foi calculado 2,0 para a razão O/Si e 0,05 para Ti/Si.

Tabela 4. Energia de Ligação dos Elementos do SiTCl (eV).

Amostra	O_1	O_2	Ti2p_{3/2}	Si2p	C1s*
TiO₂/SiO₂	532,6 (2,5)** [91]***	529,8 (2,1) [9]	458,4 (2,6)	103,4 (2,6)	284,6 (2,1)
TiO₂	-	529,9	458,8	-	-
SiO₂	532,5	-	-	103,3	-

*referência de energia de ligação

** (largura a meia altura em eV)

*** [intensidade relativa]

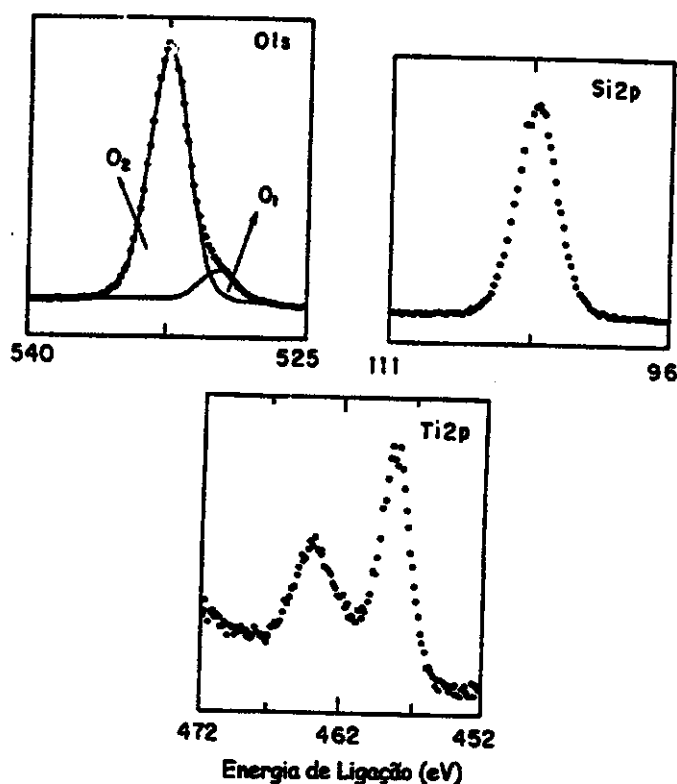


Figura 16. Espectros de XPS da sílica titanizada.

IV.2.8. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

Na Figura 17 estão apresentados os valores encontrados para a massa molar numérica média (M_n) e a polidispersividade para o poli(metiloctilsiloxano), que são 6.129 e 2,52, respectivamente. Os valores encontrados diferem um pouco dos valores de catálogo (73), provavelmente devido às condições de análise. A Tabela 5 mostra os valores das massas molares e polidispersividade obtidas para o PMOS do suporte SiTB. Como ilustrado, enquanto a massa molar numérica não sofreu alteração, os valores referentes à massa molar ponderal (M_w) e massa molar média (M_z) são

significativamente maiores para o polímero que sofreu radiação, concluindo-se que uma parcela das moléculas do polímero sofreu entrecruzamento. Esse entrecruzamento foi confirmado pelo aumento na polidispersividade de 2,38 para 3,12, pois o pico é alargado para tempos de retenção menores, ou seja, massas molares mais altas. Os picos encontrados na Figura 18 para tempos de retenção maiores são, provavelmente, devidos a fragmentos provenientes da cisão da cadeia original resultantes da irradiação na presença do oxigênio ou pela ação mecânica do solvente propulsor durante o enchimento. Este último é melhor identificado na Figura 18B.

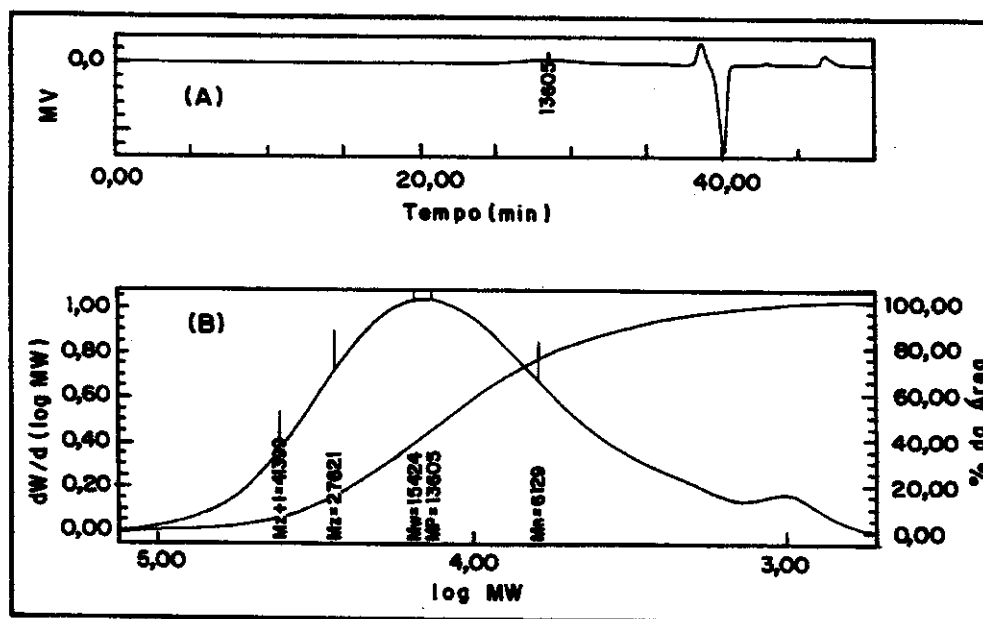


Figura 17. Cromatogramas do PMOS. Condições Cromatográficas: Coluna Ultrastyrigel 7,8 x 300 mm; Fase móvel: tolueno; vazão: 1,0 mL min⁻¹; Temperatura da coluna e detector (índice de refração): 40°C.

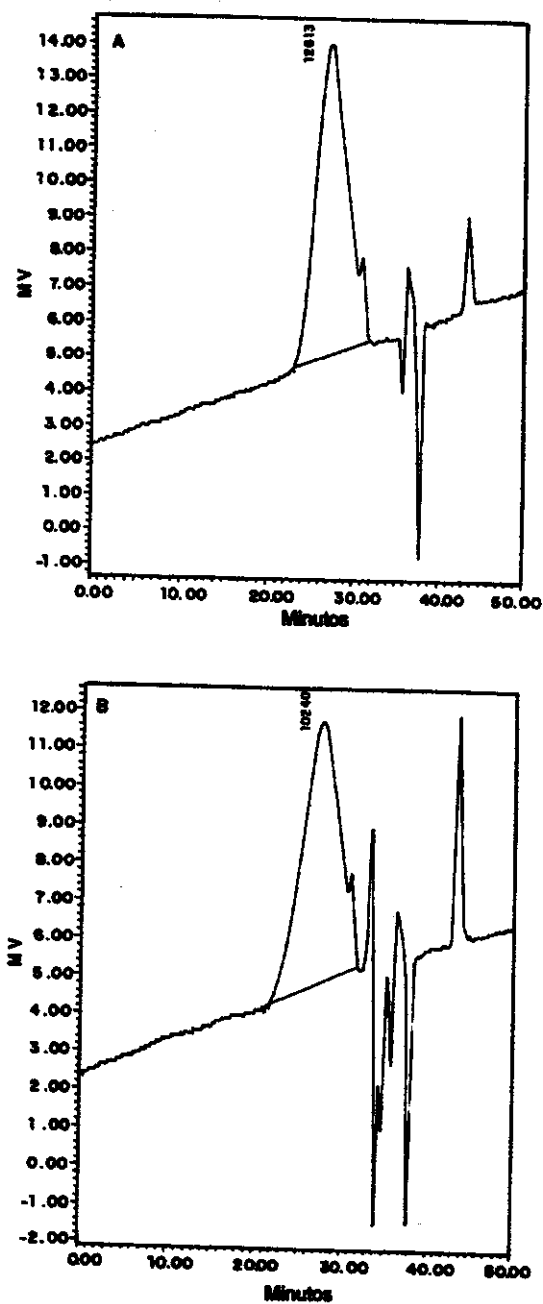


Figura 18. Cromatograma de permeação em gel do PMOS lixiviado do SiTB (A) não irradiado e (B) irradiado a 120 kGy. Condições Cromatográficas: Coluna Ultrastyrigel 7,8 x 300 mm; Fase móvel: tolueno; vazão: 1,0 mL min⁻¹; Temperatura da coluna e detector (índice de refração): 40°C.

Tabela 5. Massas molares e polidispersividade para o PMOS do SiTB.

PMOS	Mn	Mz	Mw	Polidispersividade
S_{ext}^*/S_{irrad}^{**}	5.573	23.235	13.270	2,38
$S_{ext}/120 \text{ kGy}^*$	5.573	42.829	17.376	3,12

* S_{ext} = a FE não sofreu extração

** S_{irrad} = a FE não foi submetida à irradiação gama

IV.2.9. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear

As Figuras 19 e 20 mostram os espectros de ressonância magnética nuclear do ^{29}Si para os suportes SiTCl e SiTB, respectivamente. Em cada uma destas figuras é apresentado o espectro de ressonância obtido para o suporte de sílica titanizada com $\text{Ti}(\text{BuO})_4$ ou TiCl_4 (A) com PMOS sorvido (B) e imobilizado por radiação gama (C). Os três picos exibidos pelos espectros são os referentes aos grupos siloxanos $[\text{Si}^*(\text{OSi}\equiv)]_4$ à cerca de -111,0 ppm, os grupos silanóis livres $(\text{HO})\text{Si}^*(\text{OSi}\equiv)_3$ em -102,0 ppm e os silanóis geminais $(\text{HO})_2\text{Si}^*(\text{OSi}\equiv)_2$ em -90,0 ppm. A ressonância em -20 ppm é proveniente do PMOS (86,87). Dois fatores devem ser considerados ao se comparar os espectros das fases estacionárias sorvidas e imobilizadas; deslocamento químico e a razão entre os sinais referentes aos grupos siloxanos e silanóis livres. Ao se comparar os espectros dos suportes nus com os espectros do PMOS sorvido, observa-se que não ocorreram deslocamentos químicos aparentes, levando à conclusão de que o polímero está mecanicamente sorvido sobre o suporte sem qualquer ligação química. Mas existe uma maior intensidade do pico referente aos silanóis livres quando comparado com o pico dos siloxanos e uma menor intensidade dos picos referentes aos silanóis geminais. Analisando os espectros da fase estacionária imobilizada por

radiação gama, observa-se um leve deslocamento dos picos. A intensidade do pico referente ao PMOS é maior na fase estacionária irradiada devido à maior quantidade de polímero retido por imobilização. Esse efeito na intensidade dos picos dos siloxanos, silanóis livres e geminais é mais acentuado para o suporte SiTCl, sugerindo que o tipo de síntese do suporte influencia o nível de sorção e imobilização da fase estacionária líquida, comportamento esse justificado pela avaliação cromatográfica.

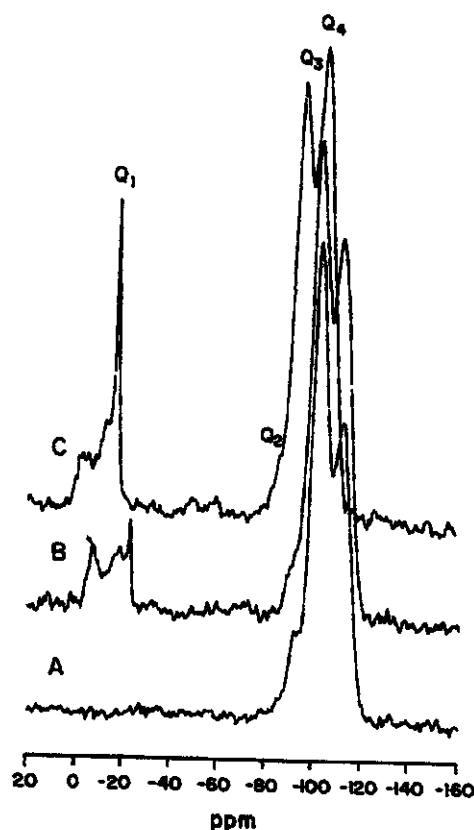


Figura 19. Espectros de ^{29}Si CP-MAS-NMR do (A) suporte de sílica titanizada (SiTCl), (B) SiTCl + 50% inicial PMOS sorvido e (C) SiTCl + 50% inicial PMOS imobilizado. As duas FEs sofreram extração com CH_2Cl_2 antes da análise de NMR.

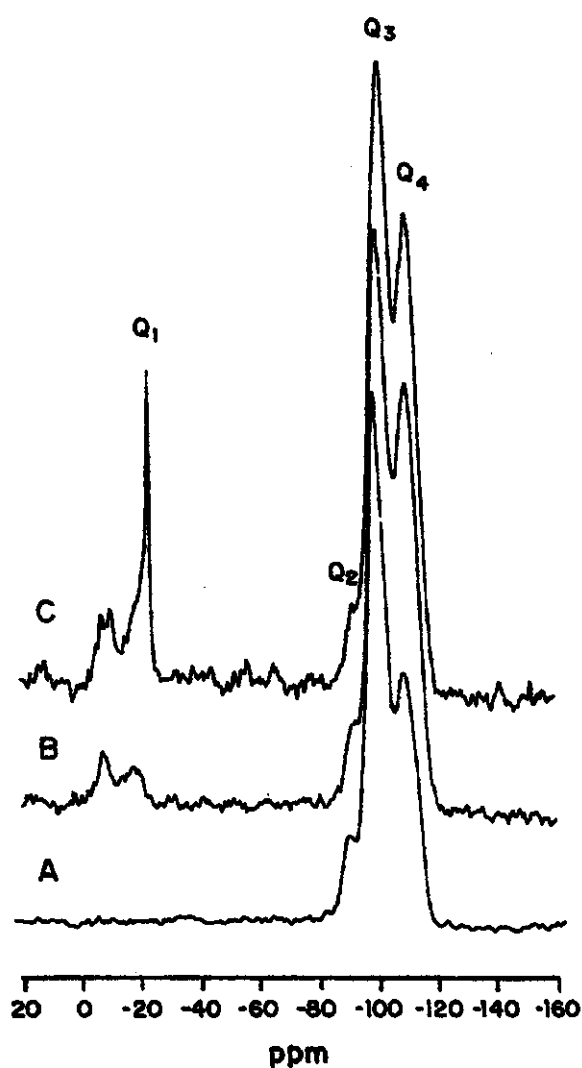


Figura 20. Espectros de ^{29}Si CP-MAS-NMR do (A) suporte de sílica titanizada (SiTB), (B) SiTB + 50% inicial PMOS sorvido e (C) SiTB + 50% inicial PMOS imobilizado. As duas FEs sofreram extração com CH_2Cl_2 antes da análise de NMR.

IV.3. TESTES QUÍMICOS**IV.3.1. Análise Elementar**

A Tabela 6 apresenta o teor total de carbono para o suporte cromatográfico e as fases estacionárias, sem a etapa de extração do polímero. Segundo os resultados apresentados existe, como esperado, aumento na quantidade de carbono com a quantidade de PMOS usada na obtenção da fase estacionária. As amostras de sílica titanizada obtidas a partir do tetrabutóxido de titânio como reagente (SiTB) apresentaram um teor de carbono elevado (2,35 %), sugerindo que ainda havia tetrabutóxido na superfície do suporte que não sofreu hidrólise. No caso da sílica modificada a partir do SiTCl, isto não é aplicável, o que justifica a ausência de carbono. Em ambos os suportes optou-se, portanto por trabalhar o carregamento a partir de 30% para selecionar a quantidade ideal de PMOS a utilizar.

Tabela 6. Teor de Carbono (%) e Quantidade de PMOS Sorvido.

%PMOS colocado	SITB		SITCl	
	% C	% PMOS	% C	% PMOS
0	2,35	-	0,70	-
10	6,51	10,5	6,42	10,3
20	10,10	16,3	9,19	14,8
30	19,58	31,5	20,32	32,8
40	24,93	40,2	25,05	40,4
50	31,07	50,1	30,69	49,5

IV.3.2. Extração por Solventes

A sorção do PMOS sobre o suporte tem como objetivo colocar uma fase "orgânica" disponível para interações do tipo fase reversa acima do suporte, além de blindar os grupos hidroxilas, diminuindo assim os grupos ativos, permitindo uma separação mais efetiva de amostras básicas por Cromatografia Líquida em Fase Reversa. Os resultados apresentados na Tabela 7 para o suporte SiTB sem irradiação indicam que, quanto maior a quantidade de polímero sorvido, maior a quantidade extraída. O poli(metiloctilsiloxano) é levemente solúvel em metanol, moderadamente solúvel no tolueno e solúvel em diclorometano. Os pontos de ebulição para estes solventes são respectivamente, 64,6, 110 e 40°C (88). Analisando estes resultados individualmente nota-se que houve um efeito significativo da solubilidade. Outro dado observado é que a quantidade de PMOS remanescente é sempre de cerca de 12% para carregamentos de PMOS igual ou superior a 30%. Este último dado indica que nem todo o PMOS adicionado é extraído, parte está realmente sorvido mecanicamente ao suporte cromatográfico.

Tabela 7. Extração de PMOS por Solventes.

PMOS (%)	CH₂Cl₂	MeOH	C₇H₈	Extração (%)	Remanescente (%)
10	0,68	1,80	3,93	6,41	3,59
30	0,95	1,60	14,12	18,66	11,34
40	1,55	1,34	24,25	27,14	12,86
50	0,80	1,22	36,15	38,14	11,86

IV.3.3. Determinação da Concentração dos Grupos Hidroxilas

Como ilustrado na Tabela 8, a concentração dos grupos hidroxilas encontrada foi de 0,468 m mol g⁻¹ para o SiTB e 0,443 para o SiTCl e que as

hidroxilas tituláveis diminuem significativamente a partir de 30% de fase estacionária líquida para o mesmo material submetido à análise elementar apresentado no item IV.2.2. não submetido à irradiação.

Tabela 8. Concentração dos Grupos Hidroxilas (m mol g^{-1})*

PMOS (%)	0	10	20	30	40	50
SiTB	0,468	0,370	0,135	0,038	0,025	0,014
SiTCI	0,443	0,382	0,220	0,093	0,025	0,014

* o resultado encontrado para a sílica nua foi de $0,590 \text{ m mol g}^{-1}$

O teor de 50% de PMOS foi então adotado como carregamento ideal foi selecionado a partir dos parâmetros cromatográficos comparados a carregamentos de 30 e 40% de Polímero (não apresentado) e, a partir do trabalho já feito no laboratório usando a sílica Davisil 60 como suporte cromatográfico (26).

IV.4. TESTES CROMATOGRÁFICOS

IV.4.1. Parâmetros Cromatográficos das Fases Estacionárias Submetidas à Irradiação Gama

Foi observado durante o enchimento das colunas cromatográficas que o metanol utilizado como solvente propulsor arrastava mecanicamente a fase estacionária líquida utilizada no carregamento, restando a dúvida de qual era o valor extraído e se a quantidade arrastada era apenas a que estava em excesso ou também parte da fase estacionária sorvida mecanicamente. Baseada nessa observação, resolveu-se quantificar o teor de PMOS remanescente para que se definisse qual a quantidade real de PMOS sorvido ao

suporte cromatográfico e como essa perda de PMOS afetaria os valores dos parâmetros cromatográficos. Para que essa avaliação fosse completa considerou-se a quantificação do PMOS de acordo com 3 itens: fase estacionária que não foi submetida a qualquer tratamento antes do enchimento da coluna, fase estacionária irradiada e depois utilizada para encher as colunas e a fase estacionária submetida à extração após a irradiação, sendo depois usada para encher a coluna (Tabela 9). Nas Tabelas 10 e 11 estão apresentados os valores dos parâmetros cromatográficos para os dois tipos de recheio avaliados, PMOS sobre SiTB e SiTCl. Considerando-se a fase estacionária SiTB/PMOS, a irradiação e posterior extração do recheio em diclorometano forneceram colunas cromatográficas com melhores valores de eficiência e assimetria para os solutos de polaridade intermediária (benzeno, tolueno e naftaleno). Comparando-se as assimetrias das colunas cujos recheios foram submetidos à extração, comprova-se que a extração antes do enchimento foi a responsável pelos melhores valores de assimetria obtidos, enquanto a irradiação melhora os valores de eficiência. Provavelmente a redução na assimetria se deve à estabilidade do poli(metiloctilsiloxano) sorvido na forma de uma monocamada recobrando a superfície da sílica titanizada eliminando possíveis interações com metais que se apresentam como impurezas na sílica ou interação com o titânio ligado. Pode ser visto nas Tabelas 12 e 13 que as colunas que apresentaram melhores valores de eficiência foram aquelas que tiveram maior teor de PMOS sorvido ou entrecruzado em sua superfície.

A irradiação inicialmente apresenta a desvantagem de aumentar os tempos de análise de cerca de doze para trinta e quatro minutos (não consta na tabela), mas a resolução torna-se tão alta que permite a separação dos

solutos aqui avaliados com valores de resolução ainda considerados ideais ao se aumentar a força cromatográfica da fase móvel MeOH:H₂O de 60:40 para 70:30 v/v, com tempo de retenção de cerca de dezoito minutos (naftaleno), sem perda de eficiência.

Ao se considerar as colunas recheadas com SiTCl/PMOS, nota-se que a extração do PMOS em excesso permitiu uma maior estabilização do PMOS remanescente (Tabela 11), também reduzindo a assimetria. Neste caso, a irradiação das amostras foi suficiente para melhorar os valores de eficiência e resolução para os solutos mais apolares. Para os solutos polares, por sua vez, diminuiu a eficiência, sugerindo que alguns silanóis continuam expostos tanto pela extração quanto pelo lixiviamento do polímero, resultando em uma superfície não homogênea e em um aumento nos tempos de análise, de doze para vinte e três minutos.

As Tabelas 12 e 13 mostram que o PMOS sorvido mecanicamente não está estabilizado e que há uma grande perda tanto durante o enchimento da coluna como da própria utilização da coluna cromatográfica, mesmo a baixas vazões, como 0,3 mL min⁻¹. Mas os resultados mostram que a solubilização em diclorometano extrai o excesso de PMOS e permite uma maior estabilidade do PMOS remanescente, reduzindo perdas de polímero durante a utilização. Tanto a fase estacionária que foi apenas submetida a irradiação quando a que foi extraída após à irradiação permitiram que uma maior quantidade de polímero estivesse presente por adsorção ou entrecruzamento, reduzindo significativamente as perdas por lixiviamento durante o enchimento e durante a utilização da coluna cromatográfica.

Tabela 09. Condições para avaliação dos parâmetros cromatográficos para as colunas recheadas com SiTB/PMOS e SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50% PMOS, para as duas fases) de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama*.

Coluna	Irradiação (kGy)	Extração (E)	Fase Móvel (v/v)
A	não irradiada	não extraída	MeOH:H ₂ O 60:40
B	não irradiada	extraída	MeOH:H ₂ O 60:40
C	irradiada	não extraída	MeOH:H ₂ O 60:40
C*	irradiada	não extraída	MeOH:H ₂ O 70:30
D	irradiada	extraída	MeOH:H ₂ O 60:40
D*	irradiada	extraída	MeOH:H ₂ O 70:30

Tabela 10. Parâmetros cromatográficos para as colunas recheadas com SiTB/PMOS de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama*.

Coluna	As°	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α ^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α ^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α ^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α ^{de}
A	2,3	17.690 ± 12	0,2	14.863 ± 10	2,5	0,4	2,6	12.859 ± 7	2,4	0,8	1,8	13.253 ± 2	2,6	1,2	1,6	11.953 ± 1	2,3	1,8	1,4
B	1,6	13.147 ± 14	0,2	9.085 ± 3	2,8	0,6	3,0	10.607 ± 7	4,6	1,6	2,7	10.120 ± 18	3,7	2,8	1,8	10.049 ± 1	2,7	4,0	1,4
C	2,4	16.398 ± 16	0,3	14.143 ± 2	5,6	1,1	3,9	16.904 ± 4	9,1	3,5	3,3	18.538 ± 0	6,3	6,4	1,8	16.792 ± 2	4,1	9,3	1,4
C*	2,5	15.071 ± 9	0,2	11.998 ± 2	3,2	0,6	2,9	18.529 ± 2	7,3	2,0	7,3	21.972 ± 3	5,1	3,4	1,7	18.552 ± 4	2,8	4,4	1,3
D	1,4	14.937 ± 12	0,2	17.066 ± 13	3,5	0,6	3,0	26.207 ± 13	9,6	2,2	3,6	33.412 ± 2	8,9	7,1	1,9	31.289 ± 3	5,8	10,3	1,5
D*	1,4	16.225 ± 0	0,3	19.062 ± 3	6,2	1,0	4,1	31.614 ± 4	12,8	3,8	3,7	30.391 ± 12	6,3	3,7	1,7	28.071 ± 9	3,5	4,8	1,3

* a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno.

Tabela 11. Parâmetros cromatográficos para as colunas recheadas com SiTCl/PMOS de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama*.

Coluna	As°	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ³⁰	k ^p	α ³⁰	N/m ^c	Rs ³⁰	k ^o	α ³⁰	N/m ^d	Rs ³⁰	k ^o	α ³⁰	N/m ^e	Rs ³⁰	k ^o	α ³⁰
A	1,8	18.315 ± 47	0,2	25.198 ± 52	2,3	0,4	2,2	26.515 ± 57	6,6	1,1	3,0	25.989 ± 62	4,4	1,8	1,6	24.215 ± 82	2,1	2,2	1,2
C	1,2	15.459 ± 10	0,2	16.605 ± 4	3,5	0,6	2,9	29.694 ± 3	13,2	3,1	5,0	34.305 ± 18	7,8	5,5	1,8	31.455 ± 18	3,5	6,9	1,3
D	1,3	11.425 ± 10	0,2	18.848 ± 12	2,9	0,5	2,8	29.825 ± 5	13,5	2,9	5,4	32.495 ± 5	7,5	5,0	1,8	26.725 ± 0	3,1	6,3	1,3

* a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno.

Tabela 12. Teor de PMOS (%) no SiTB/PMOS antes e após a sua utilização, de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama. Carregamento inicial de 50% PMOS.

Coluna	PMOS (%)		
	após extração	antes uso*	após uso**
S _{irradiar} / S _{extrair}	-	18,2	8,1
Extraída	16,6	15,5	15,3
Irradiada	-	28,4	24,3
Irradiada/Extraída	28,1	27,5	26,3

* após enchimento da coluna

** retirada da coluna após os testes

Tabela 13. Teor de PMOS (%) no SiTCl/PMOS antes e após a sua utilização de acordo com o tratamento: extração e/ou irradiação gama. Carregamento inicial de 50% PMOS.

Coluna	PMOS (%)		
	após extração	antes uso*	após uso**
S _{irradiar} / S _{extrair}	-	21,9	18,6
Irradiada	-	22,6	18,7
Irradiada/Extraída	32,3	31,3	30,9

* após enchimento da coluna

** retirada da coluna após os testes

IV.4.2. Otimização da Dose de Radiação e do Solvente de Suspensão

A radiação gama usando fonte de ^{60}Co estabilizou a fase estacionária líquida sobre o suporte cromatográfico, produzindo melhores parâmetros cromatográficos. A partir desse resultado preliminar foram investigadas as doses de radiação de 80 e 120 kGy. Também foi testado outro solvente de suspensão usando, como alternativa ao CCl_4 , uma mistura de clorofórmio:metanol 90:10 v/v, sugerida por Pesek et alii (82) para fases

estacionárias à base de titânia (óxido de titânio). A identificação das colunas constam da Tabela 14, enquanto a Tabela 15 compara os valores de eficiência e assimetria para o naftaleno. As Tabelas 16 e 17 apresentam todas as avaliações cromatográficas das colunas envolvidas na otimização da dose de radiação e solvente de suspensão.

Tabela 14. Dados para Otimização da Dose de Radiação e Solvente de Suspensão para SiTB/PMOS e SiTCl/PMOS.

Coluna	Irradiação (kGy)	Extração (E)	Solvente Suspensão (SS)
1	80	Extraída	CCl ₄
2	120	Extraída	CCl ₄
3	80	Extraída	CHCl ₃ : MeOH 90:10 v/v
4	120	Extraída	CHCl ₃ : MeOH 90:10 v/v

Tabela 15. Parâmetros Cromatográficos para o naftaleno em SiTB/PMOS e SiTCl/PMOS.

Coluna	SiTB/PMOS		SiTCl/PMOS	
	As	Eficiência	As	Eficiência
1	1,5	20.197	1,2	32.965
2	1,5	24.160	1,6	27.744
3	1,9	18.904	1,2	32.721
4	1,2	28.871	1,2	35.554

Os resultados apresentados na Tabela 15 mostram que a dose de 120 kGy e a utilização do CHCl₃:MeOH 90:10 (v/v) como solvente de suspensão melhoram significativamente os valores de eficiência e assimetria.

Tabela 16. Parâmetros Cromatográficos das Colunas Recheadas com SITCI/PMOS

Coluna	As ^a	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{bc}	k ^c	α ^{bc}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α ^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α ^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α ^{de}
1	1,2	17.141 ± 5	0,2	21.998 ± 10	3,5	0,6	2,7	31.650 ± 7	12,4	2,5	4,8	34.054 ± 4	7,3	4,3	1,7	32.965 ± 0	3,3	5,4	1,3
2	1,6	14.732 ± 6	0,2	15.206 ± 10	3,1	0,6	2,7	24.319 ± 6	12,4	3,0	5,1	28.634 ± 14	7,0	5,3	1,8	27.744 ± 24	3,1	6,6	1,3
3	1,2	25.259 ± 13	0,2	23.212 ± 14	3,7	0,5	2,7	36.829 ± 14	12,9	2,4	4,5	34.063 ± 8	7,4	4,1	1,7	32.721 ± 8	3,3	5,1	1,3
4	1,2	23.749 ± 13	0,2	22.099 ± 0	3,7	0,5	2,7	38.717 ± 7	13,8	2,6	4,7	40.398 ± 26	8,1	4,5	1,7	35.554 ± 21	3,5	5,6	1,3
S _{ext} /S _{irrad}	1,5	25.007 ± 5	0,2	23.101 ± 12	3,2	0,5	2,5	31.488 ± 30	8,3	1,5	3,2	31.641 ± 41	5,6	2,4	1,7	29.334 ± 50	3,7	3,0	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno.

S_{ext}/S_{irrad} = fase estacionária não foi submetida a radiação ou extração

Tabela 17. Parâmetros Cromatográficos das Colunas Recheadas com SITB/PMOS

Coluna	As ^a	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{bc}	k ^c	α ^{bc}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α ^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α ^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α ^{de}
1	1,5	15.169 ± 05	0,2	17.007 ± 10	3,5	0,6	2,9	19.658 ± 10	8,3	2,0	3,2	21.840 ± 17	5,4	3,3	1,7	20.197 ± 18	3,0	4,2	1,3
2	1,5	17.808 ± 10	0,2	15.505 ± 6	3,5	0,6	2,9	22.210 ± 2	8,3	2,0	3,2	24.101 ± 6	5,4	3,3	1,7	24.160 ± 6	3,0	4,2	1,3
3	1,9	15.124 ± 05	0,2	16.335 ± 4	3,8	0,6	2,9	19.280 ± 7	9,4	2,1	3,3	19.892 ± 6	6,4	3,5	1,7	18.904 ± 4	3,4	4,5	1,3
4	1,2	22.588 ± 08	0,2	22.742 ± 10	3,6	0,6	2,8	28.688 ± 6	8,7	1,8	3,2	35.096 ± 6	5,7	3,0	1,6	28.871 ± 3	3,0	3,8	1,3
S _{ext} /S _{irrad}	2,2	10.980 ± 16	0,2	12.323 ± 17	2,5	0,5	2,6	13.358 ± 12	4,8	1,4	2,6	13.789 ± 10	3,4	2,2	1,6	14.361 ± 9	2,0	2,9	1,3

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno.

S_{ext}/S_{irrad} = fase estacionária não foi submetida a radiação ou extração

A mistura de solventes para suspensão deve apresentar densidade mais adequada à fase estacionária preparada enquanto uma dose maior de irradiação deve provocar um ligação mais eficiente das cadeias do poli(metiloctilsiloxano) com o suporte cromatográfico ou entre as cadeias do PMOS levando a um maior entrecruzamento das cadeias poliméricas.

Observa-se que as colunas preparadas a partir do SiTCl/PMOS têm melhores assimetria e eficiência. O teor de PMOS destas mesmas colunas está apresentado nas Tabelas 18 e 19. De acordo com os resultados apresentados, as colunas recheadas com a fase estacionária SiTCl/PMOS, além de apresentarem melhores valores de eficiência, assimetria e resolução (os valores de α não sofreram alteração significativa), apresentaram teor médio de PMOS de $30,0 \pm 2,0\%$ contra os $27,7 \pm 2,0\%$ da fase estacionária obtida a partir do tetrabutóxido de titânio. Acredita-se que a menor quantidade de fase estacionária líquida sorvida seja devida à presença de butóxido residual proveniente da síntese, que oferece impedimento estéreo às cadeias do polímero e, daí, menor eficiência.

Estes resultados justificam o teor de 50% PMOS utilizado no carregamento. Considerando-se os dois suportes, a quantidade de Polímero imobilizado foi de cerca de 30% partindo-se de um carregamento inicial de 50% de PMOS. Se o teor ideal adotado fosse de 30% como indicam a concentração dos grupos hidroxilas e a análise elementar das fases estacionárias submetidas a extração em Soxhlet parte desse polímero já seria perdido na extração e lixiviamento durante o enchimento da coluna cromatográfica, resultando numa menor quantidade de PMOS imobilizado, comprometendo as características de fase reversa.

Tabela 18. PMOS (%) na fase estacionária (SiTB) antes e após sua utilização.

Coluna	PMOS(%)		
	Após extração	antes uso*	após uso**
1	27,9	27,1	26,4
2	30,0	25,9	25,7
3	27,5	27,9	25,3
4	31,1	30,0	25,0
S _{ext} , S _{irrad}	-	-	19,1

* após enchimento da coluna

** retirada da coluna após uso

Tabela 19. PMOS (%) na fase estacionária (SiTCl) antes e após sua utilização.

Coluna	PMOS(%)		
	Após extração	antes uso*	após uso**
1	30,7	30,2	28,5
2	33,3	33,0	32,8
3	30,5	29,8	30,0
4	31,1	30,7	29,4
S _{ext} , S _{irrad}	-	23,8	20,5

* após enchimento da coluna

** retirada da coluna após uso

IV.4.3. Estabilidade Química em Fase Móvel Neutra e Alcalina

Os parâmetros cromatográficos calculados para os solutos presentes na amostra padrão, utilizando as fases móveis neutra e alcalina, estão apresentados nas Tabelas 20 a 23 para a SiTCl/PMOS e nas Tabelas 24 a 27 para a SiTB/PMOS, respectivamente. Para melhor visualização, estes parâmetros estão ilustrados nos gráficos das Figuras 21 a 24 para a SiTCl/PMOS e Figuras 25 a 28 para a SiTB/PMOS.

A avaliação destes resultados mostra que a fase estacionária preparada a partir do SiTCl possui boa estabilidade química até pelo menos 10.000 vezes o volume da coluna em fase móvel de pH 7,0 e 9,0. Em todos os valores de pH investigados houve uma diminuição da eficiência no início do teste que, se acredita, seja devido a rearranjos no leito cromatográfico. Ao se alterar o pH da fase móvel para 12,0, utilizando NaOH na fase aquosa, esta estabilidade foi mantida sem alteração significativa nos parâmetros cromatográficos, apesar de oscilações nos valores da eficiência de cerca de 4.000 pratos.

Os parâmetros cromatográficos para a fase estacionária preparada a partir do SiTB sofreram alterações significativas quando a fase estacionária foi submetida à lavagem em pH 13,0, ocorrendo uma diminuição gradativa de eficiência. Para esta fase estacionária (SiTB/PMOS) algumas pequenas instabilidades já haviam sido observadas em pH 7,0 e 9,0, com diminuição na fase móvel com pH 12,0. Em pH 13,0 a eficiência mostrou um acréscimo para em seguida diminuir rapidamente para este suporte. O teste de lavagem em pH 13,0 foi interrompido em 4.000 vezes o volume da coluna, uma vez que a fase estacionária não mais permitiu a passagem de fase móvel, concluindo-se que o tempo de vida da coluna foi limitado mais por fatores físicos do que químicos, ou melhor, devido a uma alta compactação do leito cromatográfico. Deve-se lembrar que estas mesmas colunas haviam sido utilizadas na lavagem em meio neutro e que, ainda assim, efetuou a separação dos componentes da amostra como está ilustrado nos cromatogramas das Figuras 29B e 30B.

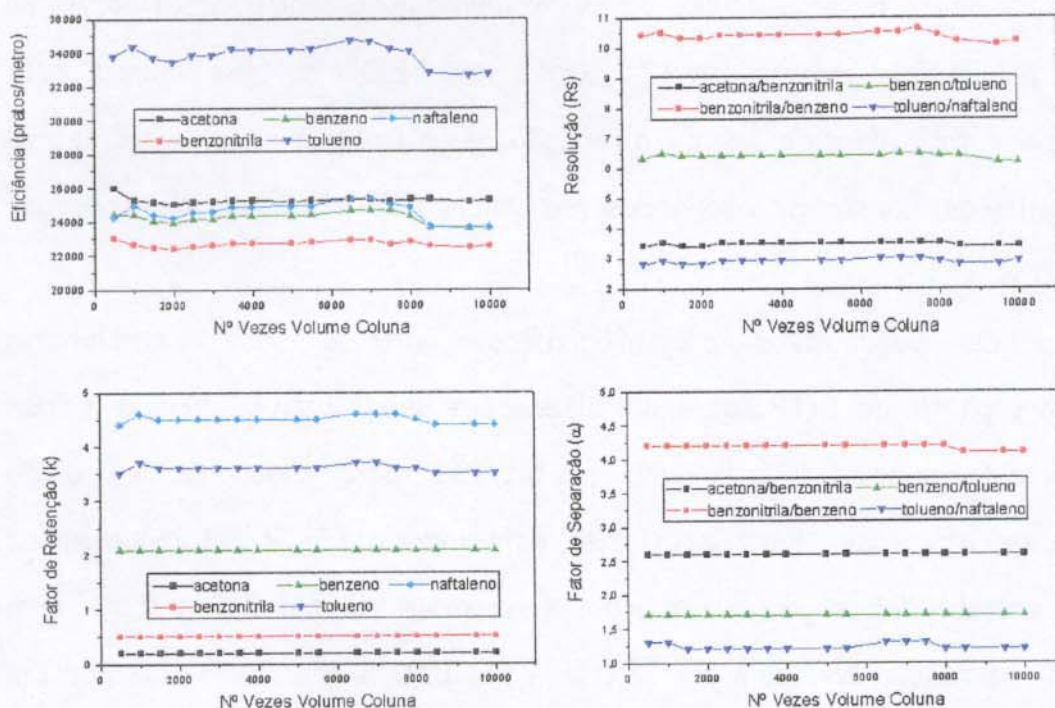


Figura 21. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel neutra.

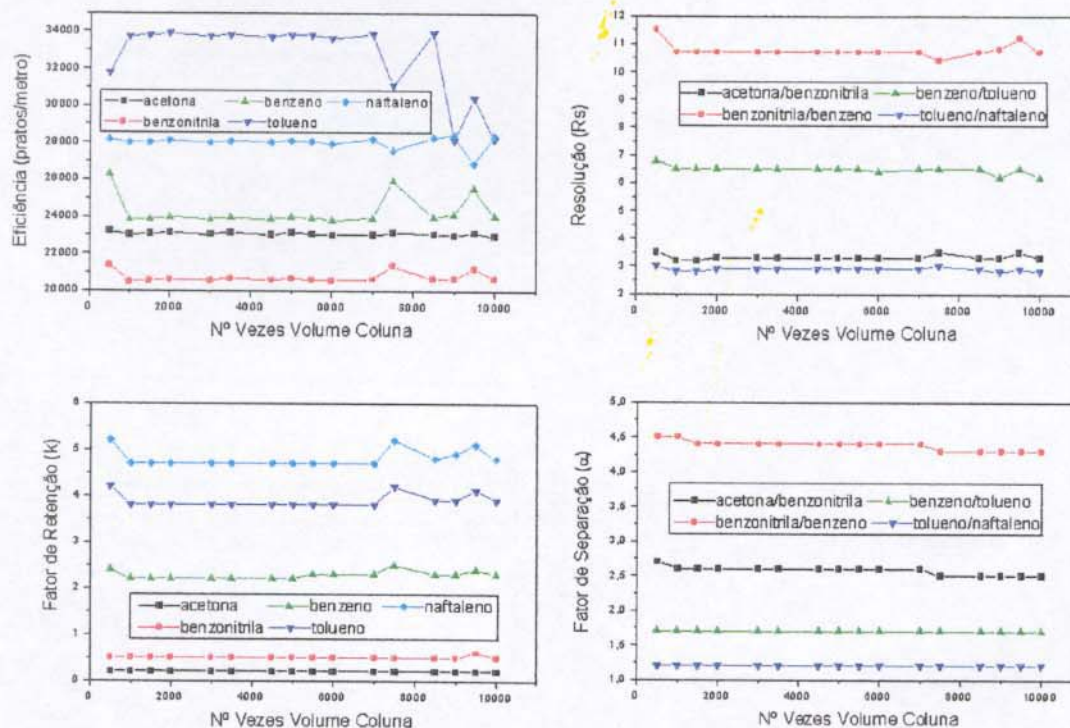


Figura 22. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy utilizando fase móvel básica (pH = 9,0).

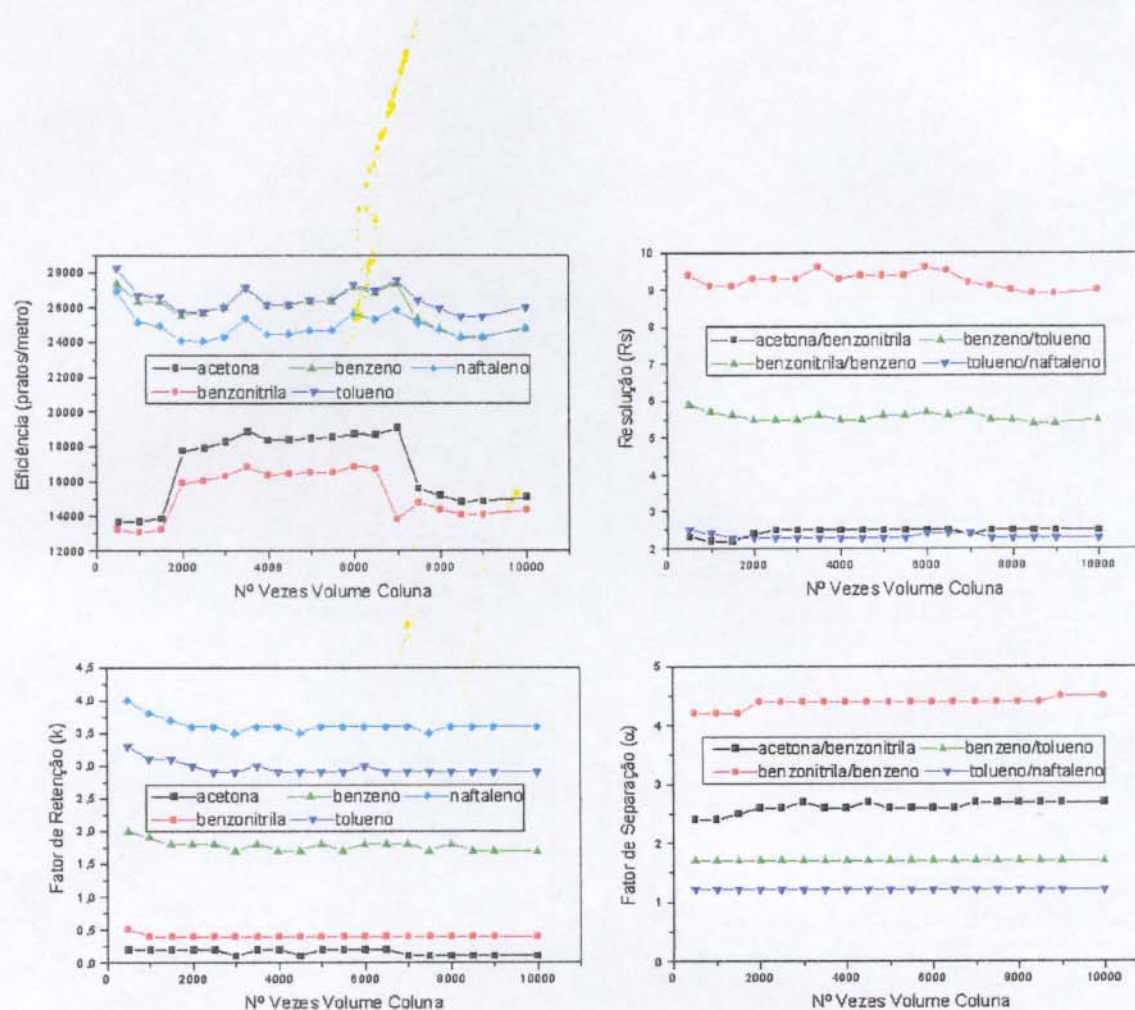


Figura 23. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 12,0).

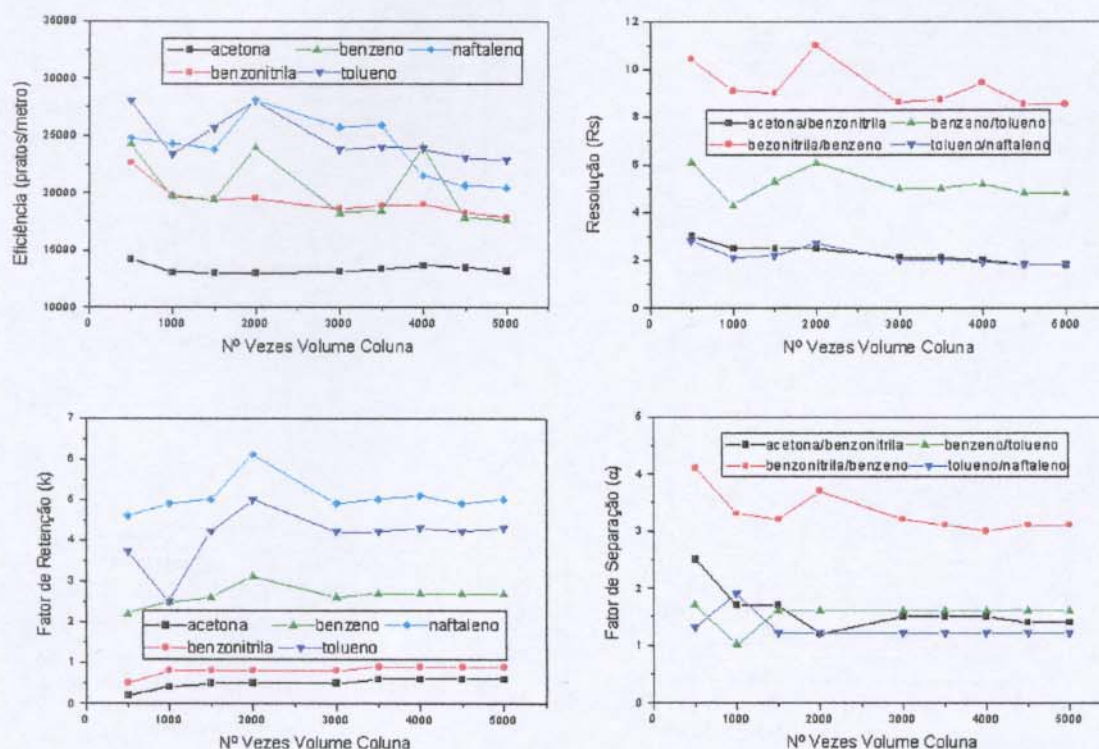


Figura 24. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 13,0).

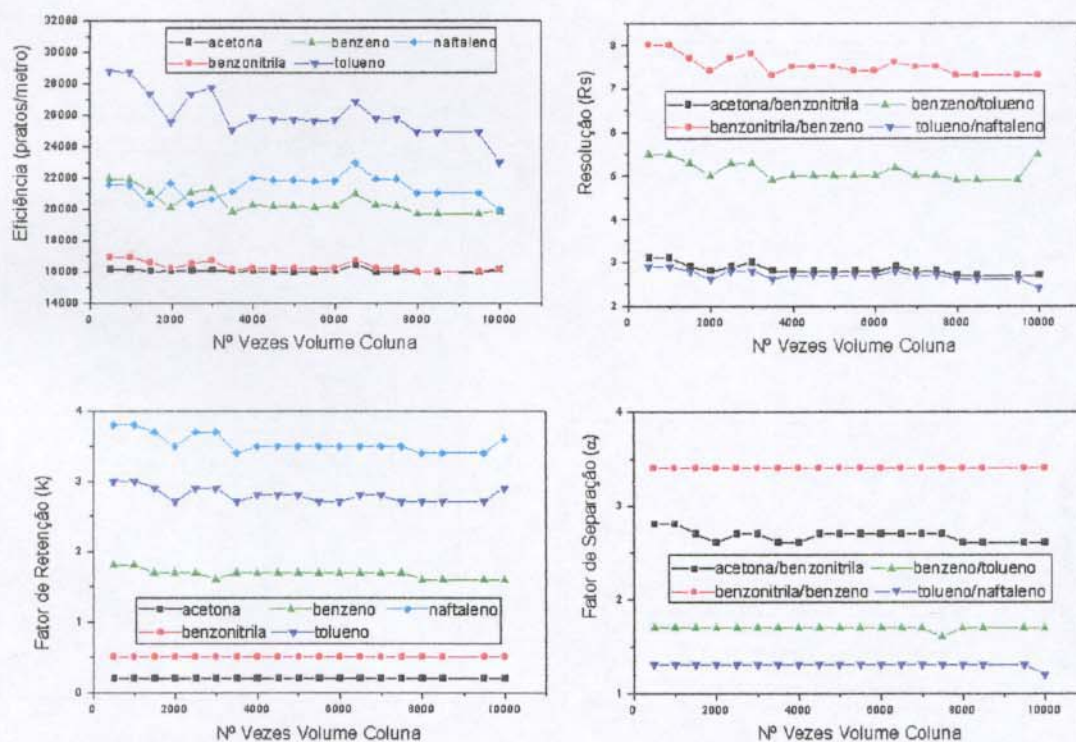


Figura 25. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel neutra (pH 7,0).

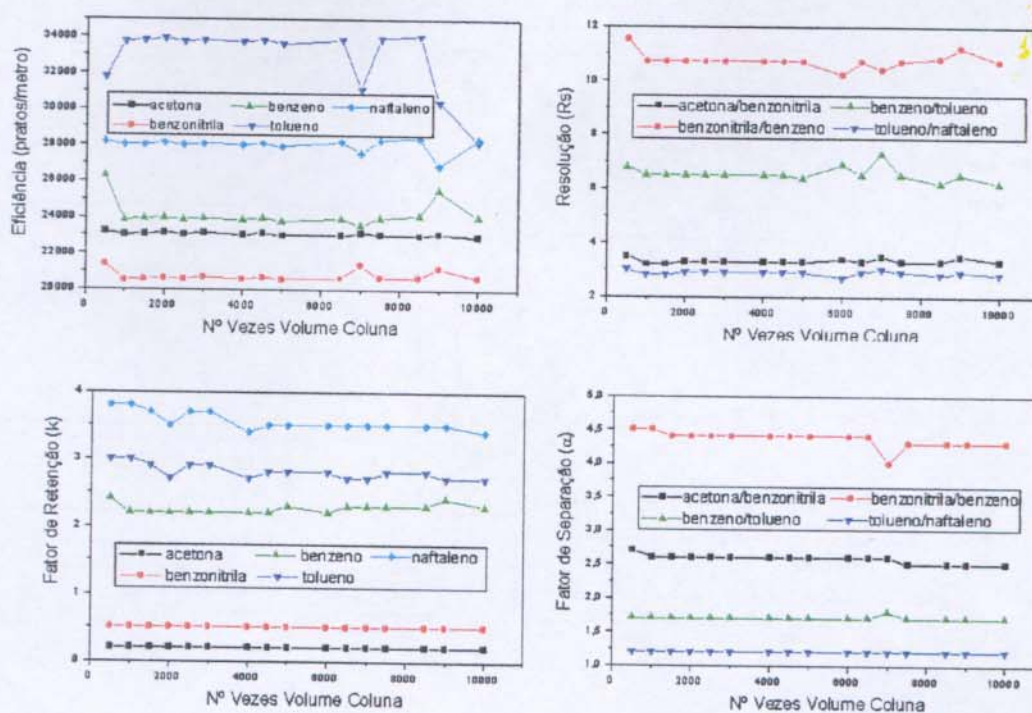


Figura 26. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 9,0).

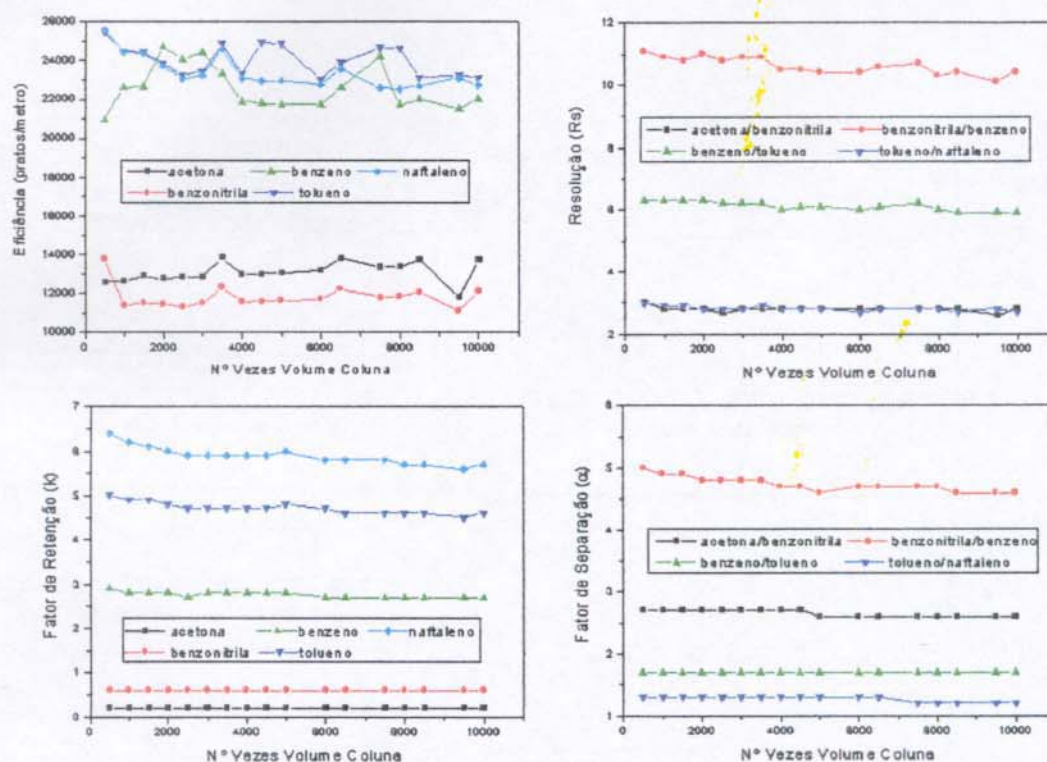


Figura 27. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 12,0).

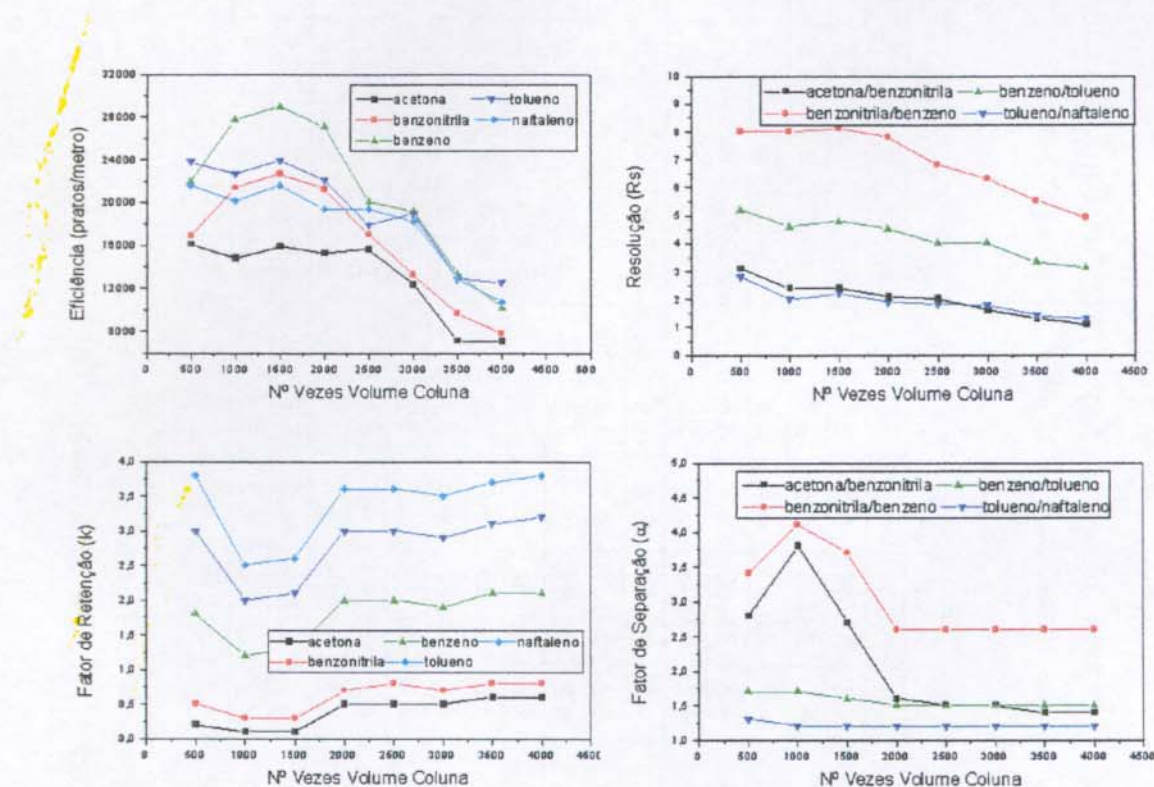


Figura 28. Eficiência (N/m), resolução (R_s), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 13,0).

Tabela 20. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel neutra (pH 7,0).

Vcol	As ^e	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α^{de}
1	2,0	25777	0,2	23466	3,6	0,5	2,7	25970	10,9	2,2	4,2	37054	6,8	3,8	1,7	27243	3,1	4,7	1,3
500	1,8	25986	0,2	23040	3,4	0,5	2,6	24430	10,4	2,1	4,2	33764	6,3	3,5	1,7	24281	2,8	4,4	1,2
1000	1,7	25259	0,2	22626	3,5	0,5	2,6	24407	10,5	2,1	4,2	34321	6,5	3,7	1,7	24957	2,9	4,6	1,2
1500	1,6	25131	0,2	22462	3,4	0,5	2,6	24066	10,3	2,1	4,2	33657	6,4	3,6	1,7	24416	2,8	4,5	1,2
2000	1,7	25028	0,2	22380	3,4	0,5	2,6	23920	10,3	2,1	4,2	33408	6,4	3,6	1,7	24232	2,8	4,5	1,2
2500	1,6	25131	0,2	22535	3,5	0,5	2,6	24151	10,4	2,1	4,2	33796	6,4	3,6	1,7	24563	2,9	4,5	1,2
3000	1,6	25182	0,2	22571	3,5	0,5	2,6	24174	10,4	2,1	4,2	33827	6,4	3,6	1,7	24593	2,9	4,5	1,2
3500	1,6	25246	0,2	22708	3,5	0,5	2,6	24383	10,4	2,1	4,2	34163	6,4	3,6	1,7	24899	2,9	4,5	1,2
4000	1,7	25246	0,2	22727	3,5	0,5	2,6	24373	10,4	2,1	4,2	34154	6,4	3,6	1,7	24891	2,9	4,5	1,2
5000	1,7	25156	0,2	22690	3,5	0,5	2,6	24345	10,4	2,1	4,2	34141	6,4	3,6	1,7	24910	2,9	4,5	1,2
5500	1,7	25259	0,2	22763	3,5	0,5	2,6	24392	10,4	2,1	4,2	34168	6,4	3,6	1,7	24918	2,9	4,5	1,2
6500	1,7	25298	0,2	22901	3,5	0,5	2,6	24669	10,5	2,1	4,2	34682	6,5	3,7	1,7	25381	3,0	4,6	1,3
7000	1,6	25311	0,2	22920	3,5	0,5	2,6	24664	10,5	2,1	4,2	34664	6,5	3,7	1,7	25370	3,0	4,6	1,3
7500	1,6	25195	0,2	22654	3,5	0,5	2,6	24664	10,6	2,2	4,2	34190	6,4	3,6	1,7	25028	3,0	4,6	1,3
8000	1,6	25298	0,2	22800	3,5	0,5	2,6	24340	10,4	2,1	4,2	34055	6,4	3,6	1,7	24839	2,9	4,5	1,2
8500	1,6	25298	0,2	22544	3,4	0,5	2,6	23662	10,2	2,1	4,1	32762	6,2	3,5	1,7	23697	2,8	4,4	1,2
9500	1,6	25156	0,2	22434	3,4	0,5	2,6	23569	10,1	2,1	4,1	32656	6,2	3,5	1,7	23638	2,8	4,4	1,2
10000	1,7	25246	0,2	22516	3,4	0,5	2,6	23643	10,2	2,1	4,1	32749	6,2	3,5	1,7	23638	2,9	4,4	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; = benzeno; d = benzeno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno

Tabela 21. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy utilizando fase móvel básica (pH = 9,0).

Vcol	As ^c	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α^{de}
500	1,5	23203	0,2	21364	3,5	0,5	2,7	26279	11,5	2,4	4,5	31732	6,8	4,2	1,7	28142	3,0	5,2	1,2
1000	1,3	23006	0,2	20467	3,2	0,5	2,6	23849	10,7	2,2	4,5	33742	6,5	3,8	1,7	27997	2,8	4,7	1,2
1500	1,4	23092	0,2	20537	3,2	0,5	2,6	23892	10,7	2,2	4,4	33764	6,5	3,8	1,7	27997	2,8	4,7	1,2
2000	1,4	23129	0,2	20598	3,3	0,5	2,6	23962	10,7	2,2	4,4	33872	6,5	3,8	1,7	28110	2,9	4,7	1,2
3000	1,4	23030	0,2	20537	3,3	0,5	2,6	23864	10,7	2,2	4,4	33715	6,5	3,8	1,7	27987	2,9	4,7	1,2
3500	1,4	23141	0,2	20633	3,3	0,5	2,6	23943	10,7	2,2	4,4	33804	6,5	3,8	1,7	28062	2,9	4,7	1,2
4500	1,4	23006	0,2	20545	3,3	0,5	2,6	23849	10,7	2,2	4,4	33688	6,5	3,8	1,7	27987	2,9	4,7	1,2
5000	1,4	23141	0,2	20659	3,3	0,5	2,6	23958	10,7	2,2	4,4	33804	6,5	3,8	1,7	28075	2,9	4,7	1,2
5500	1,6	23043	0,2	20598	3,3	0,5	2,6	23906	10,7	2,3	4,4	33760	6,5	3,8	1,7	28062	2,9	4,7	1,2
6000	1,6	22993	0,2	20537	3,3	0,5	2,6	23802	10,7	2,3	4,4	33604	6,4	3,8	1,7	27925	2,9	4,7	1,2
6500	1,4	25634	0,2	22855	3,4	0,5	2,6	26200	11,1	2,2	4,4	30314	6,3	3,8	1,7	26249	2,7	4,6	1,2
7000	1,6	23006	0,2	20606	3,3	0,5	2,6	23920	10,7	2,3	4,4	33822	6,5	3,8	1,7	28175	2,9	4,7	1,2
7500	1,5	23129	0,2	21337	3,5	0,6	2,5	25926	11,4	2,5	4,3	31081	6,6	4,2	1,7	27571	3,0	5,2	1,2
8500	1,5	23043	0,2	20633	3,3	0,5	2,5	23990	10,7	2,3	4,3	33921	6,5	3,9	1,7	28270	2,9	4,8	1,2
9000	1,5	22981	0,2	20650	3,3	0,5	2,5	24089	10,8	2,3	4,3	28141	6,2	3,9	1,7	28393	2,8	4,9	1,2
9500	1,5	23116	0,2	21195	3,5	0,6	2,5	25492	11,2	2,4	4,3	30384	6,5	4,1	1,7	26863	2,9	5,1	1,2
10000	1,5	22944	0,2	20650	3,3	0,5	2,5	24019	10,7	2,3	4,3	28163	6,2	3,9	1,7	28314	2,8	4,8	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno

Tabela 22. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTCl/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 12,0).

Vcol	As ^e	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α^{de}
500	1,4	13656	0,2	13194	2,3	0,5	2,4	27372	9,4	2,0	4,2	28221	5,9	3,3	1,7	26922	2,5	4,0	1,2
1000	1,2	13684	0,2	13071	2,2	0,4	2,4	26353	9,1	1,9	4,2	26702	5,7	3,1	1,7	25150	2,4	3,8	1,2
1500	1,3	13855	0,2	13205	2,2	0,4	2,5	26359	9,1	1,8	4,2	26587	5,6	3,1	1,7	24957	2,3	3,7	1,2
2000	1,3	17771	0,2	15911	2,4	0,4	2,6	25542	9,3	1,8	4,4	25714	5,5	3,0	1,7	24104	2,3	3,6	1,2
2500	1,4	17948	0,2	16062	2,5	0,4	2,6	25709	9,3	1,8	4,4	25753	5,5	2,9	1,7	24088	2,3	3,6	1,2
3000	1,3	18266	0,1	16330	2,5	0,4	2,7	26033	9,3	1,7	4,4	26019	5,5	2,9	1,7	24305	2,3	3,5	1,2
3500	1,3	18881	0,2	16859	2,5	0,4	2,6	27114	9,6	1,8	4,4	27161	5,6	3,0	1,7	25392	2,3	3,6	1,2
4000	1,4	18388	0,2	16385	2,5	0,4	2,6	26106	9,3	1,7	4,4	26136	5,5	2,9	1,7	24460	2,3	3,6	1,2
4500	1,3	18407	0,1	16427	2,5	0,4	2,7	26167	9,4	1,7	4,4	26176	5,5	2,9	1,7	24489	2,3	3,5	1,2
5000	1,2	18463	0,2	16503	2,5	0,4	2,6	26353	9,4	1,8	4,4	26385	5,6	2,9	1,7	24686	2,3	3,6	1,2
5500	1,3	18529	0,2	16531	2,5	0,4	2,6	26348	9,4	1,7	4,4	26377	5,6	2,9	1,7	24686	2,3	3,6	1,2
6000	1,3	18757	0,2	16873	2,5	0,4	2,6	27143	9,6	1,8	4,4	27289	5,7	3,0	1,7	25628	2,4	3,6	1,2
6500	1,3	18691	0,2	16726	2,5	0,4	2,6	26806	9,5	1,8	4,4	26949	5,6	2,9	1,7	25308	2,4	3,6	1,2
7000	1,3	19063	0,1	13827	2,4	0,4	2,7	27384	9,2	1,8	4,4	27551	5,7	2,9	1,7	25862	2,4	3,6	1,2
7500	1,3	15611	0,1	14763	2,3	0,4	2,7	25324	9,1	1,7	4,4	26400	5,5	2,9	1,7	25128	2,3	3,5	1,2
8000	1,2	15159	0,1	14376	2,3	0,4	2,7	24780	9,0	1,8	4,4	25939	5,5	2,9	1,7	24729	2,3	3,6	1,2
8500	1,2	14853	0,1	14085	2,3	0,4	2,7	24297	8,9	1,7	4,4	25453	5,4	2,9	1,7	24266	2,3	3,6	1,2
9000	1,2	14876	0,1	14097	2,3	0,4	2,7	24317	8,9	1,7	4,5	25486	5,4	2,9	1,7	24299	2,3	3,6	1,2
10000	1,2	15084	0,1	14335	2,3	0,4	2,7	24805	9,0	1,7	4,5	26029	5,5	2,9	1,7	24839	2,3	3,6	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno

Tabela 23. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTiCl/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 13,0).

Vcol	As ^e	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α^{de}
500	1,5	14158	0,2	22626	3,0	0,5	2,5	24217	10,4	2,2	4,1	27982	6,1	3,7	1,7	24770	2,8	4,6	1,3
1000	1,3	13052	0,4	19692	2,5	0,8	1,7	19700	9,1	2,5	3,3	21620	5,0	2,5	1,0	24305	2,1	4,9	1,9
1500	1,4	12961	0,5	19403	2,5	0,8	1,7	19390	9,0	2,6	3,2	25686	5,3	4,2	1,6	23762	2,2	5,0	1,2
2000	1,4	12968	0,5	19479	2,5	0,8	1,7	23962	11,0	3,1	3,7	27993	6,1	5,0	1,6	28110	2,7	6,1	1,2
3000	1,4	13114	0,5	18615	2,1	0,8	1,5	18247	8,6	2,6	3,2	23756	5,0	4,2	1,6	25672	2,0	4,9	1,2
3500	1,4	13338	0,6	18881	2,1	0,9	1,5	18462	8,7	2,7	3,1	24004	5,0	4,2	1,6	25899	2,0	5,0	1,2
4000	1,4	13642	0,6	18965	2,0	0,9	1,5	24011	9,4	2,7	3,0	23808	5,2	4,3	1,6	21485	1,9	5,1	1,2
4500	1,4	13486	0,6	18235	1,8	0,9	1,4	17815	8,5	2,7	3,1	23041	4,8	4,2	1,6	20638	1,8	4,9	1,2
5000	1,6	13184	0,6	17867	1,8	0,9	1,4	17612	8,5	2,7	3,1	22835	4,8	4,3	1,6	20453	1,8	5,0	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno

Tabela 24. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel neutra (pH 7,0).

Vcol	As ^a	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α ^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α ^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α ^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α ^{de}
500	1,6	16140	0,2	16923	3,1	0,5	2,8	21941	8,0	1,8	3,4	28746	5,5	3,0	1,7	21575	2,9	3,8	1,3
1000	1,2	16132	0,2	16904	3,1	0,5	2,8	21914	8,0	1,8	3,4	28693	5,5	3,0	1,7	21527	2,9	3,8	1,3
1500	1,0	16016	0,2	16552	2,9	0,5	2,7	21102	7,7	1,7	3,4	27309	5,3	2,9	1,7	20281	2,8	3,7	1,3
2000	1,0	16032	0,2	16209	2,8	0,5	2,6	20116	7,4	1,7	3,4	25527	5,0	2,7	1,7	21635	2,6	3,5	1,3
2500	1,2	16032	0,2	16483	2,9	0,5	2,7	21050	7,7	1,7	3,4	27289	5,3	2,9	1,7	20323	2,8	3,7	1,3
3000	1,2	16086	0,2	16664	3,0	0,5	2,7	21342	7,8	1,7	3,4	27692	5,3	2,9	1,7	20616	2,8	3,7	1,3
3500	1,2	16016	0,2	16086	2,8	0,5	2,6	19824	7,3	1,6	3,4	25016	4,9	2,7	1,7	21118	2,6	3,4	1,3
4000	1,2	16024	0,2	16215	2,8	0,5	2,6	20241	7,5	1,7	3,4	25803	5,0	2,8	1,7	21967	2,7	3,5	1,3
4500	1,2	15978	0,2	16191	2,8	0,5	2,7	20198	7,5	1,7	3,4	25706	5,0	2,8	1,7	21859	2,7	3,5	1,3
5000	1,2	15978	0,2	16185	2,8	0,5	2,7	20181	7,5	1,7	3,4	25694	5,0	2,8	1,7	21845	2,7	3,5	1,3
5500	1,3	15947	0,2	16147	2,8	0,5	2,7	20125	7,4	1,7	3,4	25608	5,0	2,7	1,7	21779	2,7	3,5	1,3
6000	1,2	16001	0,2	16191	2,8	0,5	2,7	20172	7,4	1,7	3,4	25655	5,0	2,7	1,7	21815	2,7	3,5	1,3
6500	1,2	16403	0,2	16708	2,9	0,5	2,7	20988	7,6	1,7	3,4	26853	5,2	2,8	1,7	22948	2,8	3,5	1,3
7000	1,2	15986	0,2	16203	2,8	0,5	2,7	20224	7,5	1,7	3,4	25772	5,0	2,8	1,7	21939	2,7	3,5	1,3
7500	1,3	15978	0,2	16197	2,8	0,5	2,7	20211	7,5	1,7	3,4	25756	5,0	2,7	1,6	21931	2,7	3,5	1,3
8000	1,2	15955	0,2	15999	2,7	0,5	2,6	19713	7,3	1,6	3,4	24878	4,9	2,7	1,7	21021	2,6	3,4	1,3
8500	1,2	15955	0,2	16012	2,7	0,5	2,6	19722	7,3	1,6	3,4	24893	4,9	2,7	1,7	21034	2,6	3,4	1,3
9500	1,1	15924	0,2	15987	2,7	0,5	2,6	19700	7,3	1,6	3,4	24874	4,9	2,7	1,7	21029	2,6	3,4	1,3
10000	1,1	16101	0,2	16123	2,7	0,5	2,6	19854	7,3	1,6	3,4	23003	5,5	2,9	1,8	19951	2,4	3,6	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno

Tabela 25. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 9,0).

Vcol	As ^e	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α^{de}
500	1,5	23203	0,2	21364	3,5	0,5	2,7	26279	11,5	2,4	4,5	31732	6,8	4,2	1,7	28142	3,0	5,2	1,2
1000	1,3	23006	0,2	20467	3,2	0,5	2,6	23849	10,7	2,2	4,5	33742	6,5	3,8	1,7	27997	2,8	4,7	1,2
1500	1,4	23092	0,2	20537	3,2	0,5	2,6	23892	10,7	2,2	4,4	33764	6,5	3,8	1,7	27997	2,8	4,7	1,2
2000	1,4	23129	0,2	20598	3,3	0,5	2,6	23962	10,7	2,2	4,4	33872	6,5	3,8	1,7	28110	2,9	4,7	1,2
2500	1,4	23030	0,2	20537	3,3	0,5	2,6	23864	10,7	2,2	4,4	33715	6,5	3,8	1,7	27987	2,9	4,7	1,2
3000	1,4	23141	0,2	20633	3,3	0,5	2,6	23943	10,7	2,2	4,4	33804	6,5	3,8	1,7	28062	2,9	4,7	1,2
4000	1,4	23006	0,2	20545	3,3	0,5	2,6	23849	10,7	2,2	4,4	33688	6,5	3,8	1,7	27987	2,9	4,7	1,2
4500	1,4	23141	0,2	20659	3,3	0,5	2,6	23958	10,7	2,2	4,4	33804	6,5	3,8	1,7	28075	2,9	4,7	1,2
5000	1,6	22993	0,2	20537	3,3	0,5	2,6	23802	10,7	2,3	4,4	33604	6,4	3,8	1,7	27925	2,9	4,7	1,2
6000	1,6	25634	0,2	22855	3,4	0,5	2,6	23798	10,2	2,2	4,4	30314	6,9	3,8	1,7	26249	2,7	4,6	1,2
6500	1,4	23006	0,2	20606	3,3	0,5	2,6	23920	10,7	2,3	4,4	33822	6,5	3,8	1,7	28175	2,9	4,7	1,2
7000	1,6	23129	0,2	21337	3,5	0,6	2,5	23536	10,4	2,3	4,0	31081	7,3	4,2	1,8	27571	3,0	5,2	1,2
7500	1,5	23043	0,2	20633	3,3	0,5	2,5	23990	10,7	2,3	4,3	33921	6,5	3,9	1,7	28270	2,9	4,8	1,2
8500	1,5	22981	0,2	20650	3,3	0,5	2,5	24089	10,8	2,3	4,3	34051	6,5	3,9	1,7	28393	2,9	4,9	1,2
9000	1,5	23116	0,2	21195	3,5	0,6	2,5	25492	11,2	2,4	4,3	30384	6,5	4,1	1,7	26863	2,9	5,1	1,2
10000	1,5	22944	0,2	20650	3,3	0,5	2,5	24019	10,7	2,3	4,3	28163	6,2	3,9	1,7	28314	2,8	4,8	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno

Tabela 26. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 12,0).

Vcol	As ^e	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α^{de}
500	1,2	12590	0,2	13758	3,0	0,6	2,7	20961	11,1	2,9	5,0	25456	6,3	5,0	1,7	25585	3,0	6,4	1,3
1000	1,2	12645	0,2	11356	2,8	0,6	2,7	22590	10,9	2,8	4,9	24484	6,3	4,9	1,7	24443	2,9	6,2	1,3
1500	1,3	12844	0,2	11503	2,8	0,6	2,7	22632	10,8	2,8	4,9	24443	6,3	4,9	1,7	24345	2,9	6,1	1,3
2000	1,2	12755	0,2	11422	2,8	0,6	2,7	24713	11,0	2,8	4,8	23844	6,3	4,8	1,7	23708	2,8	6,0	1,3
2500	1,3	12823	0,2	11305	2,7	0,6	2,7	24079	10,8	2,7	4,8	23220	6,2	4,7	1,7	23048	2,8	5,9	1,3
3000	1,2	12858	0,2	11484	2,8	0,6	2,7	24433	10,9	2,8	4,8	23435	6,2	4,7	1,7	23235	2,8	5,9	1,3
3500	1,2	13841	0,2	12318	2,8	0,6	2,7	23338	10,9	2,8	4,8	24858	6,2	4,7	1,7	24595	2,9	5,9	1,3
4000	1,2	12989	0,2	11569	2,8	0,6	2,7	21891	10,5	2,8	4,7	23313	6,0	4,7	1,7	23069	2,8	5,9	1,3
4500	1,2	12989	0,2	11579	2,8	0,6	2,7	21800	10,5	2,8	4,7	24947	6,1	4,7	1,7	22950	2,8	5,9	1,3
5000	1,3	13065	0,2	11607	2,8	0,6	2,6	21755	10,4	2,8	4,6	24839	6,1	4,8	1,7	22952	2,8	6,0	1,3
6000	1,2	13170	0,2	11698	2,8	0,6	2,6	21759	10,4	2,7	4,7	23049	6,0	4,7	1,7	22758	2,7	5,8	1,3
6500	1,3	13820	0,2	12220	2,8	0,6	2,6	22601	10,6	2,7	4,7	23900	6,1	4,6	1,7	23561	2,8	5,8	1,3
7500	1,2	13352	0,2	11799	2,8	0,6	2,6	24210	10,7	2,7	4,7	24657	6,2	4,6	1,7	22585	2,8	5,8	1,2
8000	1,2	13401	0,2	11832	2,8	0,6	2,6	21725	10,3	2,7	4,7	24621	6,0	4,6	1,7	22538	2,8	5,7	1,2
8500	1,2	13720	0,2	12079	2,8	0,6	2,6	22001	10,4	2,7	4,6	23099	5,9	4,6	1,7	22691	2,7	5,7	1,2
9500	1,2	11806	0,2	11072	2,6	0,6	2,6	21510	10,1	2,7	4,6	23245	5,9	4,5	1,7	23081	2,7	5,6	1,2
10000	1,2	13727	0,2	12089	2,8	0,6	2,6	22024	10,4	2,7	4,6	23120	5,9	4,6	1,7	22712	2,7	5,7	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno

Tabela 27. Eficiência (N/m), resolução (Rs), fator de retenção (k) e fator de separação (α) em função do volume de fase móvel que passa pela coluna recheada com FE baseada em sílica titanizada, SiTB/PMOS (carregamento inicial 50%), imobilizado com 120 kGy, utilizando fase móvel básica (pH = 13,0).

Vcol	As ^e	N/m ^a	k ^a	N/m ^b	Rs ^{ab}	k ^b	α^{ab}	N/m ^c	Rs ^{bc}	k ^c	α^{bc}	N/m ^d	Rs ^{cd}	k ^d	α^{cd}	N/m ^e	Rs ^{de}	k ^e	α^{de}
500	1,6	16140	0,2	16923	3,1	0,5	2,8	21941	8,0	1,8	3,4	23757	5,2	3,0	1,7	21575	2,8	3,8	1,3
1000*	2,3	14846	0,1	21382	2,4	0,3	3,8	27679	8,0	1,2	4,1	22675	4,6	2,0	1,7	20166	2,0	2,5	1,2
1500	1,5	15924	0,1	22672	2,4	0,3	2,7	28961	8,1	1,3	3,7	23912	4,8	2,1	1,6	21565	2,2	2,6	1,2
2000	1,5	15286	0,5	21248	2,1	0,7	1,6	27062	7,8	2,0	2,6	22029	4,5	3,0	1,5	19386	1,9	3,6	1,2
2500	1,0	15687	0,5	17042	2,0	0,8	1,5	20049	6,8	2,0	2,6	17944	4,0	3,0	1,5	19416	1,8	3,6	1,2
3000	1,0	12365	0,5	13294	1,6	0,7	1,5	19183	6,3	1,9	2,6	18913	4,0	2,9	1,5	18249	1,7	3,5	1,2
3500	1,6	7245	0,6	9680	1,3	0,8	1,4	13327	5,5	2,1	2,6	12892	3,3	3,1	1,5	12890	1,4	3,7	1,2
4000	1,3	7111	0,6	7858	1,1	0,8	1,4	10214	4,9	2,1	2,6	12515	3,1	3,2	1,5	10709	1,3	3,8	1,2

a = acetona; b = benzonitrila; c = benzeno; d = benzeno; d = tolueno; e = naftaleno;

ab = acetona/benzonitrila; bc = benzonitrila/benzeno; cd = benzeno/tolueno; de = tolueno/naftaleno

* foi eluída com fase móvel pH = 13

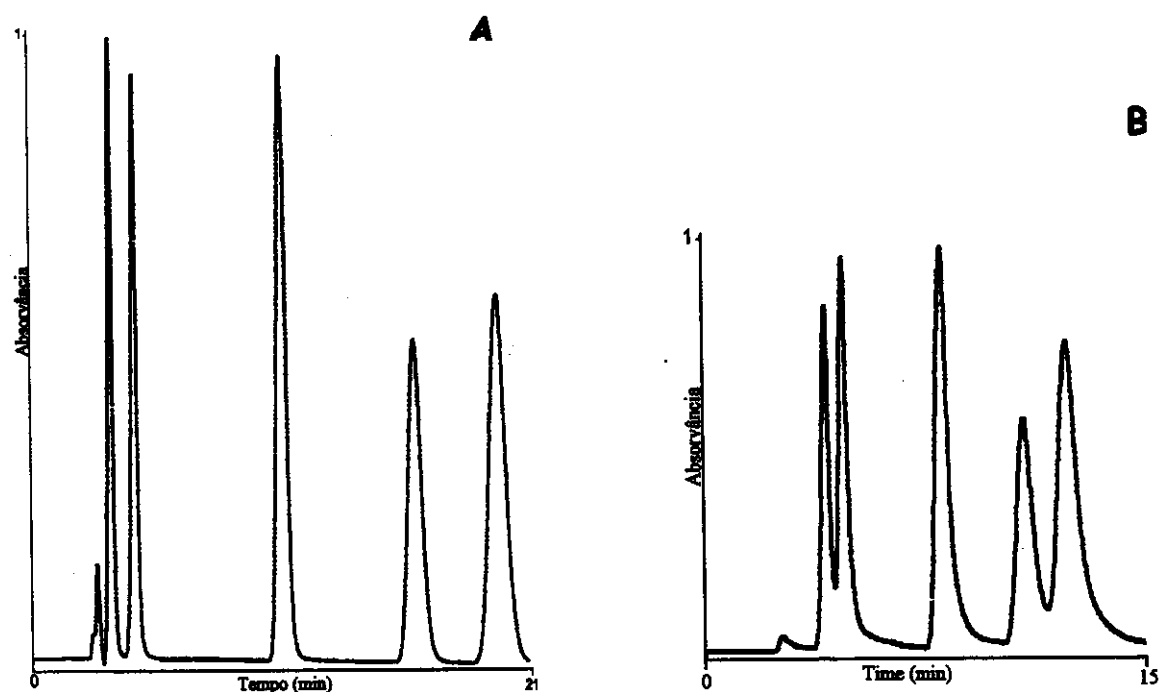


Figura 29. Cromatogramas amostra padrão sobre sílica titanizada (SiTB/PMOS), carregamento inicial 50% PMOS, irradiada (120 kGy) e extraída, após lavagem com 10.000 vezes o volume da coluna em (A) pH 12,0 e (B) 4000 vezes em pH 13,0. Condições cromatográficas: vazão fase móvel: 0,3 mL min⁻¹, Vol. amostra: 15 µL, veloc. papel: 0,5 cm min⁻¹, fase móvel: MeOH : H₂O 70:30(v/v). Ordem de eluição dos componentes: acetona, benzonitrila, benzeno, tolueno e naftaleno.

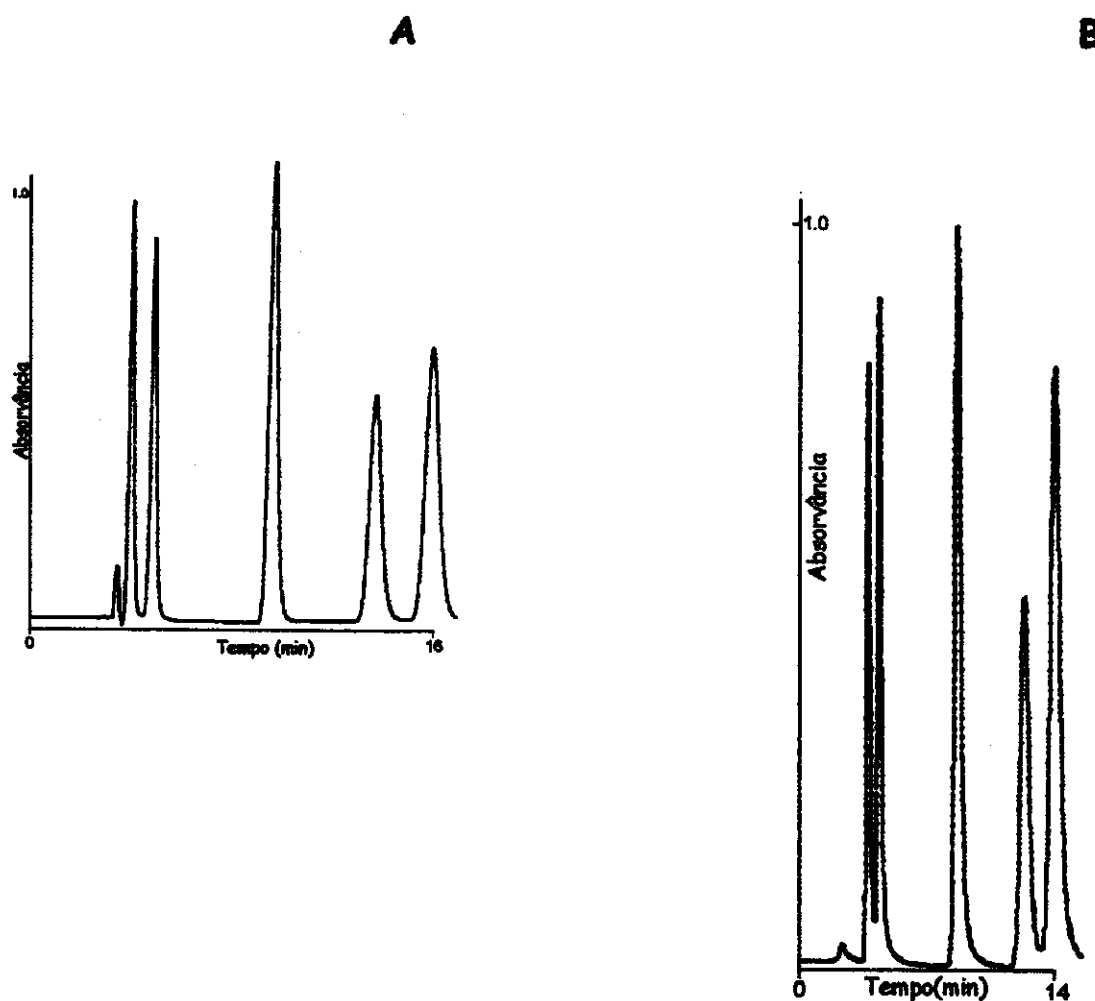


Figura 30. Cromatogramas de amostra padrão sobre sílica titanizada (SiTCl/PMOS), carregamento inicial 50% PMOS, irradiada (120 kGy) e extraída, após lavagem com 10.000 vezes o volume da coluna em (A) pH 12,0 e (B) 4000 vezes em pH 13,0. Condições cromatográficas: vazão fase móvel: 0,3 mL min⁻¹, Vol. amostra: 15 µL, veloc. papel: 0,5 cm min⁻¹, fase móvel: MeOH : H₂O 70:30(v/v). Ordem de eluição dos componentes: acetona, benzonitrila, benzeno, tolueno e naftaleno.

IV.4.4. Teor de Titânio e de PMOS Após Teste de Estabilidade Química

A irradiação gama imobilizou o polímero na sílica titanizada por entrecruzamento mesmo após contato prolongado com fase móvel alcalina enquanto houve uma pequena redução no teor de titânio presente na fase estacionária. A redução foi maior à medida que a fase móvel se tornava mais alcalina. Acredita-se que essa redução no teor de titânio seja devido à lixiviação deste metal com quebras das ligações $\equiv\text{Si-O-Ti}\equiv$, porém em escala mais reduzida do que as quebras das ligações $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$ que ocorrem na sílica nua. Os resultados sugerem que os átomos de titânio lixiviados durante a utilização da fase estacionária sejam os titanóis residuais que não foram sorvidos ou ligados por irradiação à fase estacionária líquida, razão pela qual não há perda de PMOS associado a diminuição do teor de titânio.

Tabela 28. Teor de titânio e PMOS nas fase estacionária SiTCl e SiTB (carregamento inicial de 50%), irradiadas e extraídas, antes e após a passagem de 10.000 vezes o volume da fase móvel pela coluna em diferentes valores de pH.

Suporte	pH Fase Móvel	Titânio (%)		PMOS (%)	
		Antes Uso*	Após Uso**	Antes Uso*	Após Uso**
SiTCl	7	5,1	4,2	30	29
	9	5,1	-	28	27
	12	5,1	3,9	27	27
SiTB	7	4,0	2,9	24	23
	9	4,0	-	29	28
	12	4,0	2,7	33	31

* após enchimento da coluna

** retirada da coluna após uso

IV.4.5. Armazenamento das Colunas Cromatográficas

Os dois tipos de recheio, SiTB/PMOS e SiTCl/PMOS, foram avaliados nas formas: sem irradiação e irradiada a 80 kGy (SiTB) ou 120 kGy (SiTCl). Como apresentado na Tabela 29, as colunas investigadas mantiveram-se estáveis até nove meses de armazenamento em MeOH:H₂O 70:30 v/v, independentemente do tipo de reagente com o qual o suporte foi sintetizado e a qual tratamento ou dose de radiação foi submetida a fase estacionária.

Tabela 29. Valores de eficiência (N/m)^a obtidos para colunas recheadas usando como suporte SiTB ou SiTCl, em diferentes tempos de armazenamento.

Suporte	Tempo de Armazenamento (meses)*			
	0	3	6	9
SiTB	14.361 ± 9	12.192 ± 3	13.390 ± 5	13.424 ± 9
SiTB/ γ^{**}	28.702 ± 7	29.087 ± 4	27.800 ± 3	28.532 ± 3
SiTCl	29.338 ± 49	27.393 ± 2	26.661 ± 9	27.108 ± 11
SiTCl/ γ^{**}	35.554 ± 21	34.664 ± 9	33.533 ± 11	31.986 ± 7

* calculados para o naftaleno

** irradiadas com 120 kGy

IV.4.6. Teste com Mistura Básica

As fases estacionárias foram avaliadas frente a três amostras que apresentam dificuldades em desempenho: uma mistura básica de anilina e *N,N*-dimetilanilina; uma segunda, de agrotóxicos e uma terceira amostra, contendo uma mistura de fármacos. As fórmulas estruturais dos solutos estão apresentadas na Figura 31.

A ordem de eluição dos solutos pode ser analisada de acordo com a basicidade ou preferencialmente, pela polaridade, pois a fase móvel básica manteve os solutos na forma não ionizada. Como esperado, a anilina, que é mais

polar elui primeiro que a *N,N*-dimetilanilina que possui uma maior interação com a fase estacionária líquida (Figura 32).

As Figuras 33 e 34 apresentam os cromatogramas das amostras contendo a mistura de fármacos de característica básica para os suportes obtidos com o tetrabutóxido (SiTB) e o tetracloreto de titânio (SiTCl). Houve diferença de cerca de 6 minutos nos tempos de retenção, além de uma melhor resolução para a fase estacionária obtida a partir do tetrabutóxido de titânio com picos simétricos para os dois tipos de suporte.

As triazinas, levemente básicas, utilizadas na amostra de herbicidas mostraram interações com a fase estacionária que levaram a uma boa resolução, demonstrando que a imobilização do polímero sobre o suporte cromatográfico foi eficiente em reduzindo ou mesmo eliminando, nesse caso, interações irreversíveis desses solutos básicos com o suporte cromatográfico (Figura 35). O cloro como substituinte gera um aumento de carga nos nitrogênios das posições 1 e 3, tornando a triazina mais polar e com menor afinidade pela fase estacionária apolar (83). No caso das triazinas aqui estudadas e que possuem o mesmo substituinte na posição 2 é necessário observar os substituintes das posições 4 e 6 para entender os tempos de retenção encontrados: t_R cianazina < t_R simazina < t_R atrazina, pois o substituinte $-NHCH(CH_3)CN$ (para a cianazina) é um grupo polar por causa da presença do grupo cianeto ($-CN$).

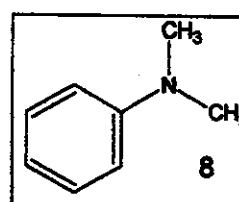
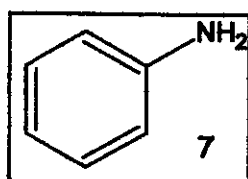
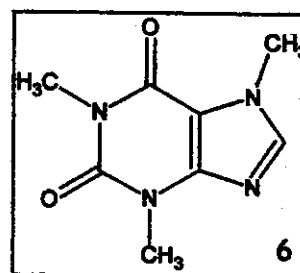
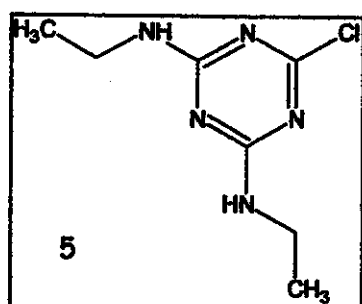
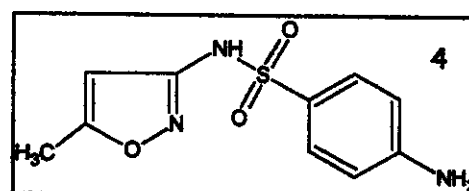
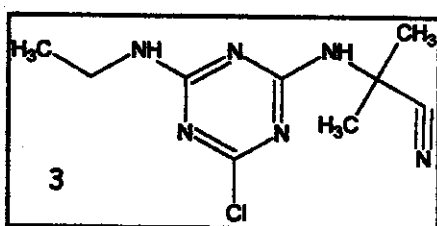
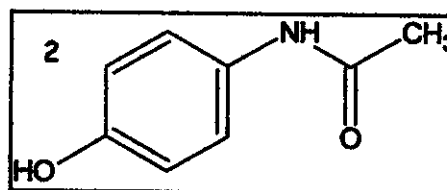
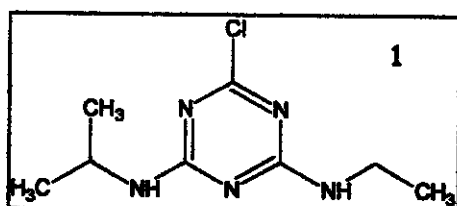


Figura 31. Estruturas dos solutos básicos: 1) atrazina; 2) fenacetina; 3) cianazina; 4) sulfametoxazol; 5) simazina; 6) cafeína; 7) anilina e 8) *N,N*-dimetilanilina.

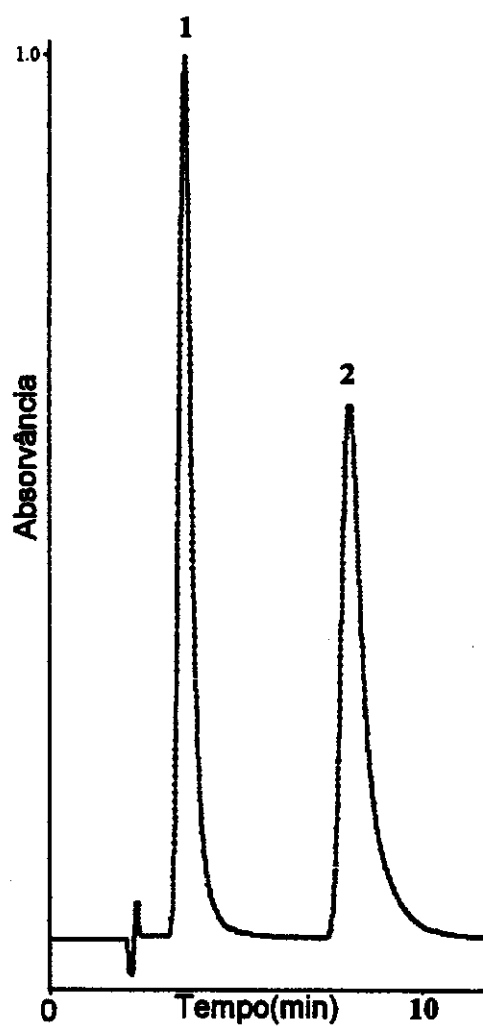


Figura 32. Cromatograma de mistura básica. Fase Estacionária: SiTCl/PMOS(120 kGy)/extraída. Coluna: 150 x 3,8 mm; Fase Móvel: MeOH:H₂O 80:20 (v/v) a 0,5 mL/min. Detecção a 254 nm. Solutos: 1) anilina, 2) *N,N*-ddimetilanilina.

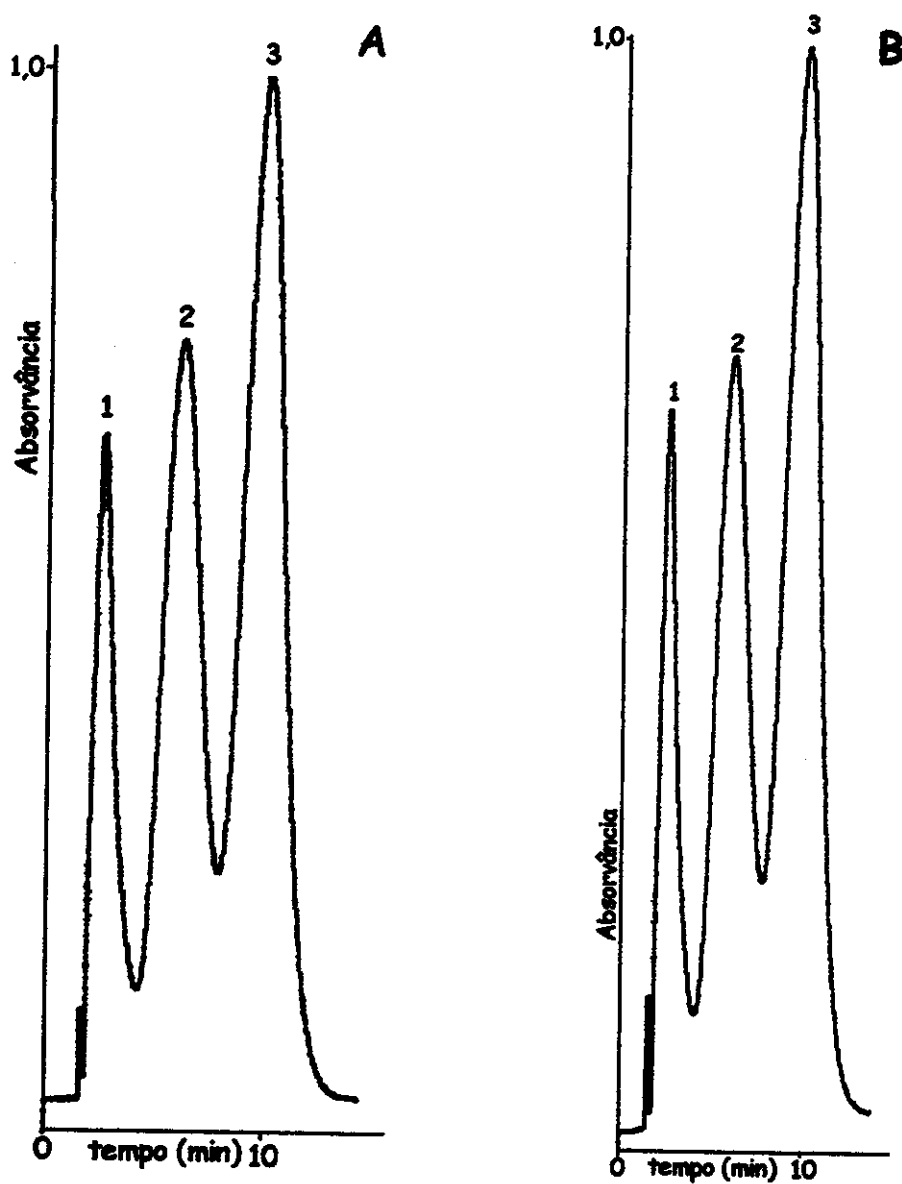


Figura 33. Cromatogramas de fármacos. Fase Estacionária: SiTCl/PMOS (120kGy)/extraída. Coluna: 150 x 3,8 mm; Detecção a 254 nm. Solutos 1) sulfametoxazol, 2) fenacetina, e 3) cafeína. A): pH 3 com a fase móvel MeOH:H₃PO_{4(aq)} 35:65 (v/v) e B) pH 10 com fase móvel: MeOH:NaOH_(aq) 35:65 (v/v), ambas a 0,5 mL/min.

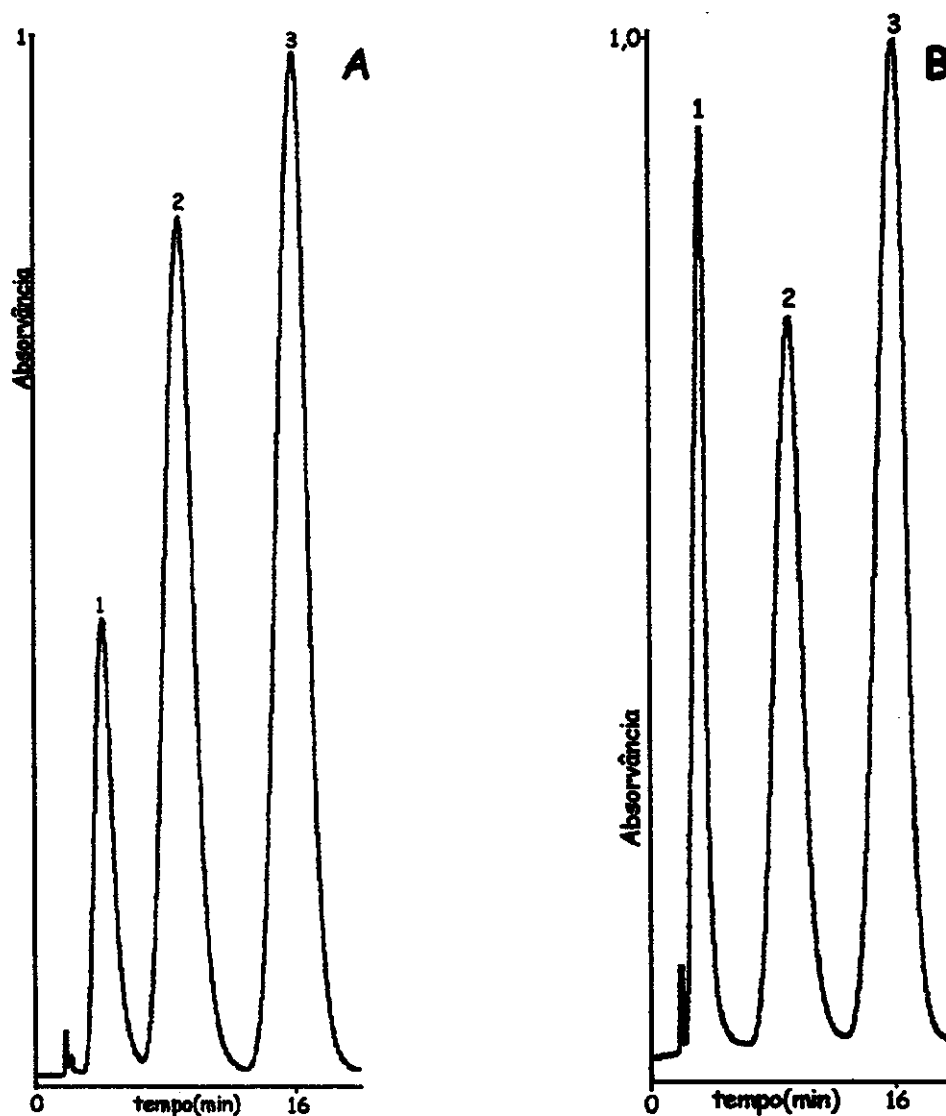


Figura 34. Cromatogramas de fármacos. Fase Estacionária: SiTB/PMOS (120kGy)/extraída. Coluna: 150 x 3,8 mm; Detecção a 254 nm. Solutos 1) sulfametoxazol, 2) fenacetina, e 3) cafeína. A): pH 3 com a fase móvel MeOH:H₃PO_{4(aq)} 35:65 (v/v) e B) pH 10 com fase móvel: MeOH:NaOH_(aq) 35:65 (v/v), ambas a 0,5 mL/min.

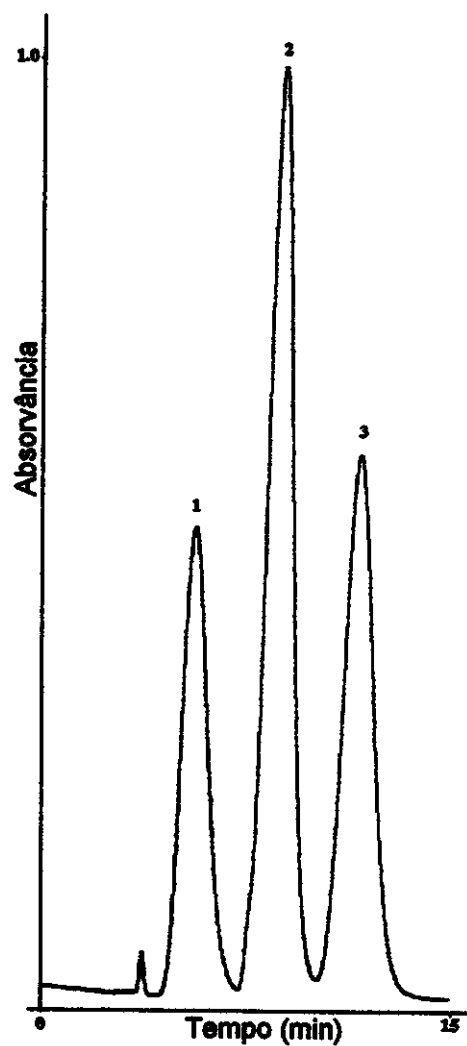


Figura 35. Cromatograma de algumas triazinas (herbicidas). Fase Estacionária: SiTCl/PMOS (120kGy)/extraída. Coluna: 150 x 3,8 mm; Fase Móvel: MeOH:H₂O 60:40 (v/v) a 0,3 mL/min. Detecção: 230 nm. Solutos: 1) cianazina, 2) simazina e 3) atrazina.

V. Conclusões

Os resultados levam a concluir que a modificação da superfície da sílica com tetracloreto ou tetrabutóxido de titânio permite que se ligue quimicamente cerca de 4% de titânio na forma de seu óxido metálico e que a imobilização do poli(metiloctilsiloxano) na superfície deste suporte através da radiação gama produz fases estacionárias altamente estáveis sob fases móveis alcalinas.

No início dessa pesquisa foram otimizados uma pressão de enchimento de 42 MPa, vazão de fase móvel de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, um carregamento inicial de PMOS de 50% e uma mistura de metanol:água 60:40 v/v como fase móvel para a separação dos solutos de polaridade intermediária de uma amostra padrão.

O tetracloreto de carbono, solvente de suspensão (10% m/v) utilizado até então, pôde ser substituído por uma mistura de clorofórmio:metanol sem alterações que depreciassem os parâmetros cromatográficos.

Os valores altos de assimetria obtidos inicialmente foram reduzidos pela extração do excesso de polímero presente e não adsorvido, através da extração com diclorometano. Juntas, a radiação gama e a extração permitiram que se obtivessem fases estacionárias que produziram colunas cromatográficas mais eficientes.

E sem dúvida alguma, a maior contribuição deste trabalho para pesquisas em CLAE de fase reversa foi a estabilidade química das fases estacionárias obtidas. A sílica titanizada com poli(metiloctilsiloxano) imobilizada por radiação gama usando uma fonte de ^{60}Co produziu colunas

cromatográficas estáveis quimicamente até pH 12, mesmo após a passagem de 10000 vezes o volume da coluna em fase móvel alcalina. O valor de 10000 vezes representa uma coluna trabalhando 40 dias, ininterruptamente, a uma vazão de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ sob condições agressivas de pH. Mesmo ao se utilizar o pH 13, a fase estacionária permitiu a separação dos componentes da amostra padrão até 4000 vezes o volume da coluna. A coluna só foi dada como "morta" quando a compactação do leito cromatográfico submetido a um trabalho extenso a $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ não mais permitiu a passagem de fase móvel mesmo a vazões baixíssimas, como por exemplo $0,1 \text{ mL min}^{-1}$.

Os cromatogramas obtidos para a amostra padrão de solutos de polaridade intermediária apresentaram bons valores de eficiência e assimetria dentro dos valores permitidos pela literatura.

Através dos testes realizados com a mistura básica de anilinas obtiveram-se picos bem separados, com eficiência e assimetria razoáveis. As demais amostras básicas, misturas de fármacos e herbicidas, foram satisfatoriamente separadas com picos simétricos e eficiência compatível às partículas de $10 \mu\text{m}$ utilizadas. Acredita-se que essa baixa eficiência pode ser melhorada se forem utilizadas como suporte inicial partículas de sílica esféricas e com diâmetro menor. Esta possibilidade deverá ser avaliada em trabalho futuro.

VI. Referências Bibliográficas

1. SNYDER, L.R. e KIRKLAND, J.J., "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2ª edição, John Wiley & Sons, New York, 1979.
2. MILLER, J.M., "Chromatography: Concepts and Contrasts", John Wiley & Sons, New York, 1988.
3. HUPE, K.P., "The Past 10 Years in Chromatography", LC-GC, 10(1992)211-213.
4. COLLINS, C.H. BRAGA, G.L. e BONATO, P.S., coordenadores, "Introdução a Métodos Cromatográficos", 4ª edição, Editora da UNICAMP, 1993.
5. BEREK, D. e NOVÁK, I., "Silica Gel and Carbon Column Packings For Use in High-Performance Liquid Chromatography", Chromatographia, 30(1990)582-590.
6. BERTHOD, A., "Silica: Backbone Material of Liquid Chromatographic Column Packings", J. Chromatogr., 549(1991)1-28.
7. NAWROCKI, J. "The Silanol Group and Its Role in Liquid Chromatography", J. Chromatogr., 779(1997)29-71.
8. VAN DER DRIEST, P.J.; RITCHIE, H.J. e ROSE, S., "Octadecyl Bonded Phases on Silica Gel Supports", LC-GC, 6(1988)124-132.
9. ILLER, R.K., "The Chemistry of Silica", John Wiley & Sons, New York, 1979.
10. COLIN, H. e GUIOCHON, G., "Introduction to Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography", J. Chromatogr., 141(1977)289-312.
11. LAW, B. e CHAM, P.F., "Stability of Silica Packing Materials Towards a Mixed Aqueous-Organic Eluent at Alkaline pH", J. Chromatogr., 467(1989)267-271.

12. STOUT, R.W., SIVAROFF, S.I., RICKER, R.D.L., PALMER, H.C., JACKSON, M.A., e ODIORNE, T.J., "New Ion-Exchange Packings Based on Zirconium Oxide Surface-Stabilized, Diol-Bonded, Silica Substrates", *J. Chromatogr.*, **352**(1986)381-397.
13. HALÁSZ, I. e SEBESTIAN, I., "New Stationary Phase for Chromatography", *Angew. Chem.*, **8**(1969)453-454.
14. BARTH, H.G.; BARBER, W.E.; LOCHMÜLLER, C.H.; MAJORS, R.E. e REGNIER, F.E., "Column Liquid Chromatography", *Anal. Chem.*, **58**(1986)211R-250R.
15. EVANS, M.B., DALE, A.D. e LITTLE, C.I., "The Preparation and Evaluation of Superior Bonded Phases for Reversed-Phase, High-Performance Liquid Chromatography", *Chromatographia*, **13**(1980)5-10.
16. POOLE, C.F. e POOLE, J.K., "Chromatography Today", Elsevier Science Publishing, New York, 1991.
17. AKAPO, S.O., FURST, A., KHONG, T.M. e SIMPSON, C.F., "Chromatographic Evaluation of Oligomeric C₈ Reversed Phases for use in HPLC.", *J. Chromatogr.*, **471**(1989)283-296.
18. NAWROCKI, J. e BUSZEWSKI, B., "Influence of Silica Surface Chemistry and Structure on the Properties, Structure and Coverage of Alkyl-Bonded Phases for High-Performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, **449**(1988)1-24.
19. DORSEY, J.G. e COOPER, W.T., "Retention Mechanism of Bonded-Phase Liquid Chromatography", *Anal. Chem.*, **66**(1994) 857A-867A.

- 20.ENGELHARDT, H.; EBERHARDT, W. e MUB, M., "Polymer Encapsulated Stationary Phases: Advantages, Properties and Selectivities", *Chromatographia*, 27(1989)535-543.
- 21.ZUO, Y.M., ZHU, B.R., LIAU, Y., GUI, M.D., PANG, Z.L. e QI, J.X., "Polymer Encapsulated Packing Material for Reversed Phase Liquid Chromatography" *Chromatographia*, 38(1994) 756-760.
- 22.SCHOMBURG, G., DEEGE, A., KÖHLER, J. e BIEN-VOGELSANG, V., "Immobilization of Stationary Liquids in Reversed e Normal Phase Liquid Chromatography. Production and Testings of Material for Bonded-Phase Chromatography", *J. Chromatogr.*, 282(1983)27-39.
- 23.BIEN-VOGELSANG, V., DEEGE, A., FIGGE, H., KÖHLER, J. e SCHOMBURG, G., "Synthesis of Stationary Phases for Reversed-Phase Liquid Chromatography Using Silanization and Polymer Coating", *Chromatographia*, 19(1984)170-179.
- 24.FIGGE, H., DEEGE, A., KOHLER, J. e SCHOMBURG, G., "Stationary Phases for Reversed-Phase Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 351(1986)393-408.
- 25.OHMACHT, R., KELE, M. e MATUS, Z., "Polymer Coated Stationary Phases for Liquid Chromatography", *Chromatographia*, 28(1989)19-23.
26. ANAZAWA, T.A., "Imobilização por Radiação Gama de Fase Estacionária Líquida Sobre Suporte de Sílica para Uso em CLAE", Dissertação de Mestrado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1992.
- 27.KIRKLAND, J.J., DILKS, C.H. e HENDERSON, J.E., "Technologies for an Improved C₁₈ Stationary Phase in Reversed-Phase HPLC Separations", *LC-GC*, 11(1993)290-297.

28. WIRTH, M.J. e FATUNMBI, H.O., "Horizontal Polymerization of Mixed Trifunctional Silanes on Silica: A Potential Chromatographic Stationary Phase", *Anal. Chem.*, 14(1992)2783-2786.
29. WIRTH, M.J. e FATUNMBI, H.O., "Horizontal Polymerization of Mixed Trifunctional Silanes. 2. Application to Chromatographic Silica Gel", *Anal. Chem.*, 65(1993)822-826.
30. HANSON, M. e UNGER, K.K., "Polymers Coatings as Stationary Phases in HPLC", *Trends Anal. Chem.*, 11(1993)128-138.
31. "Dionex Solutions for Ions Analysis", Publicação nº 34749 de DIONEX Corporation, Sunny Vale Ca, EUA(1992).
32. GRIEB, S.J., MATTIN, S.A., BELENGUER, A. M. e RITCHIE, H.J., "Chiral High Performance Liquid Chromatography With Cellulose Carbamate-Coated phases: Influence of Surface Chemistry on Enantioseletivity", *J. Chromatogr. A*, 697(1995) 271-278.
33. CRINI, J., LEKCHIRI, Y., JANUS L., MORCELLET, M., MORIN, N., "Beta cyclodextrin-copolymers Coated on Silica Beads: Synthesis, Characterization and Retention Behaviour in HPLC", *Chromatographia*, 50(1999) 661-669.
34. ANAZAWA, T.A. e JARDIM, I.C.S.F., "Polimethyloctylsiloxane Adsorbed on Porous Silica as a Packing Material for Reversed-Phase in High-Performance Liquid Chromatography", *J. Liquid Chromatogr.*, 817(1994)1265-1276.
35. ANAZAWA, T.A., CARRARO, F., COLLINS, K.E. e JARDIM, I.C.S.F., "Stability of HPLC Columns Packed with C₁ e C₈ Polysiloxanes Sorbed into Porous Silica Particles", *J. Chromatogr.*, 697(1995)159-164.

36. PESEK, J.J. e TANG, V.H., "The Modification of Alumina, Zirconia, Thoria and Titania for Potential Use as HPLC Stationary Phase Through a Silanization/ Hydrolisation Reaction Scheme", *Chromatographia*, 39(1994) 649-654.
37. ELESTAD, O.H. e BLINDHEIM, V., "Reaction of Titanium Tetrachloride with Silica Gel Surfaces", *J. Mol. Catal.*, 33(1985)275-287.
38. KUBOTA, L.T.; GUSHIKEM, Y., CASTRO, S. e MOREIRA, J.C., "Preparation and Characterization of Titanium(IV) Oxide Grafted onto Silica on a Silica Gel Surface", *Colloids Surf.*, 57(1991)11-15.
39. PEIXOTO, C.R.M., GUSHIKEM, Y. e BACCAN, N., "Selective Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Chromium (VI) Using a Flow Injection System with a Microcolumn of Zirconium(IV) Oxide Modified Silica Gel", *Analyst*, 117(1992)1029-1032.
40. RETUERT, J., QUIJADA, R. e FUENZALIDA, V.M., "Titania Coatings on High and Low Surface Area Spherical Silica Particles by a sol-gel Method", *J. Mater. Chem.*, 10(2000)2818-2822.
41. STOUT, R.W. e DeSTEFANO, J.J., "A New, Stabilized, Hydrophilic Silica Packing for the High-Performance Gel Chromatography of Macromolecules", *J. Chromatogr.*, 326(1985) 63-78.
42. PESEK, J.J., SANDOVAL, J.E. e SU, M., "New alumina-based Stationary Phase for High Performance Liquid Chromatography- Synthesis by Olefin Hydrosilation on a Silicon Hydride-modified Alumina Intermediate", *J. Chromatogr.* 630(1993)95-103.

43. MAO, Y. e FUNG, B.M., "Use of Alumina with an Anchored Polymer Coating as Packing Material for Reversed-phase High-performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 790(1997)9-15.
44. CHICZ, R.M., SHI, Z. e REGNIER, F.G., "Preparation and Evaluation of Inorganic Anion-Exchange Sorbents Not Based on Silica ", *J. Chromatogr.*, 359(1986) 121-130.
45. KAWARAHARA, M., NAKAMURA, H. e NAKAJIMA, T., "Titania and Zirconia: Possible New Ceramic Microparticulates for High-Performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 515(1990) 149-153.
46. TRÜNDIGER, U., MÜLLER, G. e UNGER, K.K., " Porous Zirconia and Titania as Packing Materials for High-Performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 535(1990)111-125.
47. YU, J. e EL RASSI, Z., "Reversed-Phase Liquid Chromatography with Microspherical Octadecyl-Zirconia Bonded Stationary Phase", *J. Chromatogr.*, 631(1993) 91-106.
48. WEBER, T.P., CARR, P.W. e FUNKENBUSCH, E.F., "Evaluation of a Zirconia-Based Carbon-Polymer Composite Reversed-Phase Chromatographic Support", *J. Chromatogr.*, 519(1990) 31-52.
49. WINKLER, J. e MARMÉ, S., "Titania as a Sorbent in Normal-phase Liquid Chromatography", *J. Chromatogr. A*, 888(2000) 51-62.
50. PURSCH, M., VANDERHART, D.L., SANDER, L.C., GU, XIAOHONG, NGUYEN, T., WISE, S.A. AND GAJEWSKI, D.A., "C₃₀ Self-Assembled Monolayers on Silica, Titania, and Zirconia: HPLC Performance, Atomic Force Microscopy, Ellipsometry, and NMR Studies of Molecular Dynamics and Uniformity of Coverage", *J. Am. Chem. Soc.*, 122(2000) 6997-7011.

51. RIGNEY, M.P., FUNKENBUSCH, E.F. e CARR, P.W., "Physical and Chemical Characterization of Microporous Zirconia", *J. Chromatogr.*, **499**(1990) 291-304.
52. SCHAFER, W.A., CARR, P.W., FUNKENBUSCH, E.F. e PARSON, K.A., "Physical and Chemical Characterization of a Porous Phosphate-Modified Zirconia Substrate", *J. Chromatogr.*, **587**(1991) 137-147.
53. SCHAFER, W.A. e CARR, P.W., "Chromatographic Characterization of a Phosphate-Modified Zirconia Support for Bio Chromatographic Application", *J. Chromatogr.*, **587**(1991) 149-160.
54. BLACKWELL, J.A. e CARR, P.W., "Study of the Fluoride Adsorption Characteristics of Porous Microparticulate Zirconium Oxide", *J. Chromatogr.*, **549**(1991) 43-57.
55. BLACKWELL, J.A. e CARR, P.W., "Fluoride-Modified Zirconium Oxide as a Bio Compatible Stationary Phase for High-Performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, **549**(1991) 59-75.
56. RIGNEY, M.P., WEBER, T.P. e CARR, P.W., "Preparation and Evaluation of a Polymer-Coated Zirconia Reversed-Phase Chromatographic Support", *J. Chromatogr.*, **484**(1989) 273-291.
57. YU, J. e EL RASSI, Z., "Reversed-Phase Liquid Chromatography of Dansyl Aminoacids with Microspherical Octadecyl-Silica and Octadecyl-Zirconia Bonded Stationary Phases", *J. Liquid Chromatogr.*, **16**(1993) 2931-2959.
58. HANGGI, D.A. e MARKS, N.R., "Introduction to Chromatography on Polybutadiene-Coated Zirconia", *LC-GC*, **11**(1993) 131-138.
59. WIRTH, H.J., ERIKSSON, K.O., HOLT, P., AGUILAR, M. e HEARN, M.T.W., "High-Performance Liquid Chromatography of Aminoacids, Peptides and

- Proteins. CXXIX". Ceramic-Based Particles as Chemically Stable Chromatographic Supports", J. Chromatogr., 646(1993)129-141.
60. KURGANOV, A., DAVANKOV, V., ISAJEVA, T., UNGER, K. e EISENBEISS, F., "Characterization of Covalently Bonded and Adsorbed Polymer Coatings on Silica, Alumina and Zirconia by Means of Physico-Chemical and Chromatographic Methods", J. Chromatogr., 660(1994) 97-111.
61. PESEK, J.J., SANDOVAL, E.J. e SU, M., " New Alumina-Based Stationary Phases for High-Performance Liquid Chromatography. Synthesis by Olefin Hydrosilation on a Silicon Hydride-Modified Alumina Intermediate", J. Chromatogr., 630(1993)95-103.
62. BENVENUTTI, E.V., GUSHIKEM, Y., DAVANZO, C.V., CASTRO, S.C. e TORRIANI, T.L., "Antimony (V) Oxide Grafted onto a Silica Gel Surface: Acidic Properties and Thermal Stability", J. Chem. Soc. Faraday Trans., 88(1992)3193-3196.
63. DENOFRÉ, S., GUSHIKEM, Y. e DAVANZO, C.V., "Adsorption Property of Chromium (VI) by Titanium(IV) Oxide Coated on a Silica Gel Surface", Analyst, 116(1991) 281-283.
64. DENOFRÉ, S., GUSHIKEM, Y. e DAVANZO, C.V., "Adsorption Property of Nb (V) Oxide Grafted on Silica Gel Surface", Eur. J. Solid State Inorg. Chem., 28(1991) 1295-1305.
65. KUBOTA, L.T., GUSHIKEM, Y. e MOREIRA, J.C., "Adsorption of Chromium (VI) by Titanium (VI) Oxide Coated on a Silica Gel Surface", Analyst, 116(1991) 281-283.
66. DOLAN, J.W., e SNYDER, L.R., "Troubleshooting LC Systems", The Humana Press Inc., Clifton, New Jersey, 1989.

67. ENGELHARDT, H., "High Performance Liquid Chromatography", Springer-Verlag, New York, 1979.
68. WANG, C.H., WILLIS, D.L. e LOVELAND W.D. "Radiation Methodology in the Biological, Environmental and Physical Sciences", Prentice-Hall, Engliwoods Cliffs, 1975.
69. SPINKS, J.W. e WOODS, R.J., "An Introduction to Radiation Chemistry", 2ª edição, John Wiley, New York, 1976.
70. DENARO, A.R. e JAYSON, G.G., "Fundamentals of Radiation Chemistry", Ann Arbor Science Publishers, London, 1972.
71. HARVEY, B.G., "Química Nuclear", Ed. Edgard Blücher, São Paulo, 1969.
72. SWALLOW, A.J., "Radiation Chemistry", Longman, London, 1973.
73. Hüls Petrarch Systems Silanes & Silicones, Catálogo, 1989.
74. BASSO, M.A., "Avaliação da Radiação Gama como Agente de Imobilização de Algumas Fases Estacionárias Sobre Suportes Para Uso em Cromatografia Gasosa", Tese de Doutorado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1989.
75. IBRAS CBO Indústrias Cirúrgicas e Ópticas S.A., Boletim Técnico, s.d.n.p., Campinas.
76. MIKIJEJLJ, B., VARELA, J.A. e WHITTEMORE, O.J., "Equivalence of Surface Areas Determined by Nitrogen Adsorption and by Mercury Porosimetry", *Ceramic. Bull.*, 70(1991)829-831.
77. JOLLY, W.L., "The Application of X-Ray Photoelectron Spectroscopy to Inorganic Chemistry", *Coord. Chem. Rev.*, 13(1974) 47-81.
78. SRIVASTAVA, S., "ESCA: Studies of Metal Complexes", *Appl. Spectrosc. Rev.*, 22(1986)401-535.

79. BERGQUIST, C.W., Apostila do Curso Básico de Cromatografia de Permeação em Gel, Waters Comercial, São Paulo, 1994.
80. SANCHEZ, E.F., DOMINGUEZ, J.A., MUÑOZ, J.G. e MOLERA, M.J., "Determination of the Loading in Gas Chromatographic Packing by an Extraction Method", *J. Chromatogr.*, 299(1984)151-158.
81. KHURANA, A.L. e HO, C., "Determination of Surface Silanols of Silica Gels and HPLC Bonded Phases", *J. Liquid Chromatogr.*, 11(1988)3205-3211.
82. PESEK, J.J., MATYSKA, M.T. e RAMAKRISHNAN, J., "Synthesis and Characterization of Titania Based Stationary Phases Using the Silanization/Hydrosilation Method", *Chromatographia*, 44(1997)538-544.
83. PINTO, G.M.F. e JARDIM, I.C.S.F., "Use of Solid-phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography for the Determination of Triazine Residues in Water: Validation of the Method", *J. Chromatogr. A*, 869(2000) 463-469.
84. ANAZAWA, T.A., Preparação, Caracterização e Avaliação de Diferentes Fases Estacionárias Reversas, tipo C_8 , para CLAE, Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, SP., 1996.
85. Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy, Perkin Elmer (1992).
86. PARISH, R.V., "NMR, NQR, EPQ and Mössbauer Spectroscopy in Inorganic Chemistry", Ellis Horwood, New York, 1990.
87. VERHULST, H.A.M., van de VEM, L.J.M., HAAN, J.W., CLAESSENS, H.A., EISENBEISS, F. e CRAMERS, C.A., "Patching in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography Materials Studied by Solid-State NMR Spectrometry", *J. Chromatogr. A*, 687(1994)213-221.
88. Handbook of Chemistry and Physics, CRC Press, Boca Raton, 1974.