

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

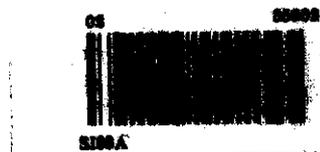
*APLICAÇÃO DE SÍLICA, CONTENDO O GRUPO
ETILENODIAMINA ANCORADO, COMO FASE ESTACIONÁRIA
PARA CLAE*

CÉSAR RICARDO DA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ORIENTADOR: PROF. DR. CLAUDIO AIROLDI

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



CAMPINAS

1998



Agradecimentos Especiais

- Ao Prof. Dr. Claudio Airoidi com que tive a valiosa oportunidade de aprender muito ao longo desses anos, não só pela sua notável capacidade de ensinamento e orientação, mas também pela sua competência, assiduidade, compreensão, pela oportunidade concedida e principalmente pela amizade.

- À Profa. Dra. Isabel Cristina Sales Fontes Jardim pelos seus valiosos conhecimentos no campo da cromatografia, pela oportunidade concedida, pela sua grande dedicação e paciência em ensinar e também pela amizade

Agradecimentos

- *Aos meus amigos e colegas do Laboratório Ana², Antônio Akira, Alexandre, Chris, Cícero, Cláudia, Eduardo, Emerson, Gardênia, Liliane, Luiza, Oyrton, Reni, Zeca, Robson e Toshio pela convivência alegre.*
- *Aos professores Yoshitaka Gushiken e José de Alencar Simoni pela convivência alegre na laboratório e pela colaboração.*
- *Aos meus ex-colegas, que hoje não trabalham mais no Laboratório, pela amizade.*
- *À Neusa, não só pela sua valiosa e indispensável ajuda prestada no Laboratório, mas principalmente pela amizade sincera.*
- *Aos colegas do Laboratório de Cromatografia Líquida, que me auxiliaram inúmeras vezes no polimento e enchimento das colunas.*
- *À Soninha por me ajudar, com muita paciência, na utilização dos cromatógrafos e também pelas sugestões e também pela amizade.*
- *Ao professor Barone pelas análises de absorção atômica*
- *Aos professores Pedro Volpe e Edvaldo Sabadini pelo apoio e amizade.*
- *Aos funcionários do Instituto de Química da UNICAMP, que direta ou indiretamente ajudaram no decorrer deste trabalho.*
- *Aos meus amigos e aos meus familiares que colaboraram indiretamente com o apoio e amizade sincera.*
- *Ao CNPq pelo auxílio financeiro.*
- *Ao Instituto de Química pela oportunidade concedida*

OBRIGADO.

*À minha família e aos meus amigos,
Com grande estima, dedico esta tese.*

Índice

Lista de Figuras.....	v
Lista de Tabelas.....	viii
Resumo.....	x
Abstract.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. A sílica.....	1
1.2. Métodos de obtenção da sílica.....	1
1.3. A superfície e a estrutura da sílica.....	2
1.4. Silanóis: métodos de determinação.....	4
1.5. O efeito do aquecimento na estrutura da sílica.....	6
1.6. Sililação da superfície da sílica.....	7
1.6.1. Método sol-gel.....	8
1.6.2. Método de recobrimento em condições anídras.....	9
1.6.3. Recobrimento da superfície da sílica na presença de água.....	10
1.7. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	11
1.7.1. Tipos de fases estacionárias empregadas em CLAE.....	12
1.8. O comportamento dos grupos silanóis residuais.....	13
1.9. Avaliação de colunas.....	16
2. OBJETIVOS.....	20
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	21
3.1. Reagentes e solventes empregados.....	21
3.2. Gás empregado.....	22

3.3. Coluna de CLAE comercial.....	22
3.4. Modificação da sílica gel.....	22
3.4.1 Reação da Davisil sílica com [3-(2-aminoetil)aminopropil]trimetoxissilano (AEAPTS) pelo método do recobrimento.....	22
3.4.2 Reação da sil-AEAPTS com clorotrimetilsilano.....	23
3.4.3 Adsorção de íons Cu^{2+} na sil-AEAPTS e sil-AEAPTS- CH_3	23
3.5 Testes químicos com as sílicas modificadas.....	23
3.5.1 Determinação dos grupos silanóis na sílica.....	23
3.5.2 Determinação do teor de Cu^{2+} adsorvido nas sílicas.....	24
3.5.3 Análise elementar de C, H e N.....	25
3.6 Testes físicos com as sílicas modificadas.....	25
3.6.1 Espectroscopia na região do infravermelho.....	25
3.6.2 Espectroscopia na região do visível e ultravioleta.....	25
3.6.3 Ressonância magnética nuclear.....	25
3.6.4 Medidas de área superficial.....	26
3.6.5 Medidas do volume específico dos poros (V_p).....	26
3.6.6 Termogravimetria (TG).....	26
3.6.7 Microscopia eletrônica.....	26
3.7 Testes cromatográficos.....	27
3.7.1 Enchimento de Colunas.....	27
3.7.1.1 Corpo e acessórios da coluna.....	27
3.7.1.2 Método de enchimento da coluna para CLAE.....	27
3.7.1.3 Escolha da concentração da suspensão.....	28
3.7.1.4 Procedimento de enchimento.....	28
3.7.2 Condicionamento das colunas recheadas.....	29

3.7.3 Avaliação das colunas recheadas.....	29
3.7.3.1 Aparelhagem utilizada em CLAE.....	29
3.7.3.2 Experimento da determinação da vazão ótima.....	30
3.7.3.3 Escolha de uma mistura teste para os cálculos dos parâmetros cromatográficos.....	30
3.7.3.4. Condições das análises cromatográficas.....	31
3.7.3.5 Cálculo dos parâmetros cromatográficos.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 Caracterizações.....	32
4.1.1 Análise elementar de C , N e H.....	32
4.1.2 Determinação do teor de Cu^{2+}	33
4.1.3 Interpretação dos espectros de IV.....	34
4.1.4 Interpretação dos espectros de ^{29}Si e ^{13}C	38
4.1.5 Interpretação do espectro de RMN de ^{13}C	42
4.1.6 Termogravimetria.....	42
4.1.7 Medidas de área superficial e volume específico dos poros.....	45
4.1.8 Espectroscopia na região do UV-Vis.....	45
4.1.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	49
4.2 Testes cromatográficos.....	51
4.2.1 Determinação da vazão ótima.....	51
4.2.2 Cálculos dos parâmetros cromatográficos.....	51
4.2.2.1 Separação da mistura teste 1 em sil-AEAPTS e sil-AEAPTS- Cu^{2+}	51
4.2.2.2 Separação da mistura teste 2.....	56

4.2.2.3 Separação das misturas 1 e 2 em sil-AEAPTS-CH ₃ e sil-AEAPTS-CH ₃ -Cu ²⁺	59
5. CONCLUSÕES.....	67
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

Lista de Figuras

Fig. 1: Representação dos tipos de silanóis presentes na superfície da sílica.....	3
Fig. 2: Esquema da desidratação reversível de uma superfície de sílica.....	7
Fig. 3: Esquema de desidroxilação irreversível da superfície da sílica.....	7
Fig. 4: Esquema de sililação da superfície da sílica em condições anidras.....	9
Fig. 5: Hidrólise, polimerização e deposição do organossilano na sílica.....	10
Fig. 6: Cromatograma típico obtido na separação de dois diferentes analitos.....	17
Fig. 7: Curva de van Deemter mostrando as contribuições dos vários termos e a velocidade linear ótima.....	19
Fig. 8: Esquema de cálculo do fator de assimetria de um pico a 10% de sua altura.....	19
Fig. 9: Adsorção dos íons Cu (II) sobre a sílica modificada com AEAPTS.....	33
Fig. 10: Espectros na região do infravermelho para Davisil sílica original, e modificadas sil-AEAPTS e sil-AEAPTS-CH ₃	34
Fig. 11: Reação de sililação dos silanóis da superfície da sílica com AEAPTS.....	36
Fig. 12: Reação de capeamento dos grupos silanóis residuais na sil-AEAPTS.....	37
Fig. 13: Espectros de RMN de ²⁹ Si da Davisil sílica (A), sil-AEAPTS (B) e sil-AEAPTS-Cu ²⁺ (C).....	38
Fig. 14: Espectros de RMN de ²⁹ Si da sílica metilada sil-AEAPTS-CH ₃ antes (A) e após (B) a adsorção de íons cobre.....	41
Fig. 15: Espectro de RMN de ¹³ C da sil-AEAPTS.....	42
Fig.16: Curvas termogravimétricas das sílicas: Davisil sílica, sil-AEAPTS, sil-AEAPTS-Cu ²⁺ e sil-AEAPTS-CH ₃	43

- Fig. 17: Espectro eletrônico da suspensão de sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ em tetracloreto de carbono no intervalo de 250 a 900 nm.....46
- Fig. 18: Diagrama de energia dos orbitais, mostrando como a distorção tetragonal, aproximação ao longo dos eixos *x* e *y* e afastamento na direção do eixo *z*, afeta os níveis de energia dos orbitais *d* para um complexo de configuração eletrônica *d⁹*.....47
- Fig. 19: Espectro eletrônico da suspensão de sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ em tetracloreto de carbono no intervalo de 250 a 900 nm, após a adição de 5 µL de anilina.....48
- Fig.20: Micrografia das partículas da sílica Davisil, com aumento de 10.000vezes, onde 1 cm é equivalente à 10 µm.....49
- Fig. 21: Micrografia das partículas de sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ em um aumento de 10.000 vezes.....50
- Fig. 22: Cromatograma da mistura 1, benzeno (1), naftaleno (2), antraceno (3), pireno (4) e nitrobenzeno (5) obtido na coluna recheada com sil-AEAPTS-Cu²⁺. Condições cromatográficas: volume de injeção de 10 µL, FM hexano:diclorometano 90:10 v/v, vazão = 0,4 mL min⁻¹, detecção UV em 254 nm e t_M de 3,91 min.....52
- Fig. 23: Cromatograma da mistura 1, benzeno (1), naftaleno (2), antraceno (3), pireno (4) e nitrobenzeno (5) obtido na coluna recheada com sil-AEAPTS. Condições cromatográficas idênticas às da figura 22.....55
- Fig. 24: Cromatogramas da N,N-dietilanilina (1) e anilina (2) nas colunas recheadas com a sil-AEAPTS (A) e sil-AEAPTS-Cu²⁺ (B). Condições cromatográficas: volume de injeção de 10 µL, FM diclorometano/metanol (98:2 v/v), vazão de 0,4 mL min⁻¹, detecção UV em 254 nm.....57
- Fig. 25: Cromatograma da mistura 1, benzeno (1), naftaleno (2), antraceno (3), pireno (4) e nitrobenzeno (5) obtido na coluna sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺. Condições cromatográficas: idênticas às da figura 22.....59

- Fig. 26: Cromatograma da mistura 1, benzeno (1), naftaleno (2), antraceno (3), pireno (4) e nitrobenzeno (5) obtido na coluna sil-AEAPTS-CH₃. Condições cromatográficas: idênticas às da figura 22.....61
- Fig. 27: Cromatograma da mistura 2 (N,N-dietilanilina (1) e anilina (2)) na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃. Condições cromatográficas: idênticas as da figura 24, volume de injeção de 10 µL, FM diclorometano / metanol (98:2 v/v), vazão = 0,4 mL min⁻¹, detecção UV em 254 nm e t_M=3,38 min.....62
- Fig. 28: Cromatograma da mistura 2 (N,N-dietilanilina (1) e anilina (2)) na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺. Condições cromatográficas: idênticas as da figura 27 com t_M = 3,40 min.....63
- Fig. 29: Cromatograma da mistura 2 (N,N-dietilanilina (1) e anilina (2)) na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺. Condições cromatográficas: volume de injeção de 10 µL, FM: diclorometano:metanol (80:20 v/v), vazão de 0,4 mL min⁻¹, detecção UV em 254 nm e t_M = 3,40 min.....65

Lista de Tabelas

Tabela 1: Percentuais de C, H e N obtidos através de análise elementar das sílicas modificadas, correspondentes relações C/N e densidade de grupos imobilizados por grama de sílica.....	32
Tabela 2: Dados das análises das curvas termogravimétricas das sílicas.....	43
Tabela 3: Valores de área superficial e volume de poros para as sílicas modificadas com os respectivos agentes sililantes.....	45
Tabela 4: Parâmetros cromatográficos calculados a partir do cromatograma da figura 22.....	52
Tabela 5: Parâmetros cromatográficos para a mistura teste 1 com a coluna Bondesil-NH ₂ comercial.....	53
Tabela 6: Parâmetros cromatográficos para a mistura teste 1 na coluna sil-AEAPTS sem o íon Cu ²⁺	55
Tabela 7: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura 2 na coluna recheada com sil-AEAPTS.....	58
Tabela 8: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura 2 na coluna recheada com sil-AEAPTS-Cu ²⁺	58
Tabela 9: Parâmetros cromatográficos para a mistura sintética 1 na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH ₃ -Cu ²⁺	60
Tabela 10: Parâmetros cromatográficos para a mistura sintética 1 na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH ₃	61
Tabela 11: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura 2 na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH ₃	63
Tabela 12: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura 2 na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH ₃ -Cu ²⁺	64

Tabela 13: Parâmetros cromatográficos obtidos na separação da mistura teste 2, utilizando a nova fase móvel composta por diclorometano:metanol na proporção 80:20 v/v.....65

Tabela 14: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura teste 2 com a coluna Bondesil-NH₂, nas seguintes condições cromatográficas: volume de injeção de 10 µL, FM diclorometano / metanol (98:2 v/v), vazão de 0,4 mL min⁻¹, detecção UV 254 nm.....66

Título: Aplicação de sílica contendo o grupo etilenodiamina ancorado, como fase estacionária para CLAE

Autor: César R. Silva

Coorientadora: Isabel C.S.F. Jardim

Orientador: Claudio Airoidi

palavras-chaves: imobilização, sílica, CLAE,

No presente trabalho, inicialmente a sílica gel cromatográfica foi modificada quimicamente com o agente sililante: [3-(2-aminoetil)aminopropil]trimetoxissilano (AEAPTS). Após esta reação, os grupos silanóis residuais foram desativados com o agente clorotrimetilsilano. Estas sílicas, foram submetidas à uma reação com íons cobre em metanol. Esses cátions ficaram fortemente adsorvidos na superfície da sílica através da complexação com os grupos etilenodiamina ancorados na superfície da sílica.

O intuito de colocar este cátion foi verificar a possibilidade de utilizar este material como fase estacionária em algumas separações cromatográficas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Assim foram feitas várias separações cromatográficas, utilizando colunas de CLAE de 150 x 3,9 mm recheadas com as sílicas modificadas, com ou sem o íon metálico, para avaliar a eficiência destas colunas e tentar verificar a influência que o cátion desempenha na separação de alguns hidrocarbonetos poliaromáticos (benzeno, naftaleno, antraceno, pireno e nitrobenzeno) e aminas aromáticas (anilina e N,N-dietilanilina). Verificou-se que os íons Cu^{2+} adsorvidos na fase estacionária, desempenham um papel importante na separação de amostras básicas, aumentando consideravelmente o tempo de retenção das aminas. A separação da mistura dos hidrocarbonetos poliaromáticos ocorreu com sucesso em ambas as colunas, contendo as fases estacionárias distintas.

Title: Application of silica, containing ethylenediamine group anchored as a stationary phase for HPLC.

Author: César R. Silva

Co-Supervisor: Isabel C.S.F. Jardim

Supervisor: Claudio Airoidi

keywords: immobilization, silica, HPLC

In the present work, chromatographic silica was chemically modified with the silylant agent: [3-(2-aminoethyl)aminopropyl]trimethoxysilane (AEAPTS). After this reaction, the residual silanol groups were deactivated with chlorotrimethylsilane. These silicas were reacted with copper ions in a methanol medium. This cation was strongly adsorbed through complexation by the pendant ethylenediamine groups attached on the silica surface.

The aim of Cu (II) ion immobilization is to verify the possibility of using this new kind of material as a stationary phase in High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Thus, chromatographic separations were made by using 150 x 3.9 mm HPLC columns packed with modified silica, with and without copper ions. The influence of this cation on the chromatographic separation of some polyaromatic hydrocarbons, such as benzene, naphthalene, anthracene, pyrene and nitrobenzene and some aromatic amines, aniline and N,N-diethylaniline. It was shown that Cu²⁺ ions adsorbed on the stationary phase have an important role in the separation of basic samples, increasing the retention time of the amines. The separation of the mixture of polyaromatic hydrocarbons was successfully performed with both columns.

1.Introdução

1.1 A sílica

A sílica ou sílica gel é um dos óxidos inorgânicos (SiO_2) mais abundantes na crosta terrestre. A sílica é também o material mais utilizado em cromatografia. Os suportes de sílica ainda são melhores em relação aos outros suportes devido à sua estabilidade mecânica e térmica, eficiência, rigidez, grande área superficial e ao seu desempenho. O conhecimento de sua estrutura química é de grande relevância para a compreensão do comportamento e da reatividade deste óxido inorgânico em vários processos, principalmente em cromatografia [1].

1.2 Métodos de obtenção da sílica

As sílicas utilizadas para o recheio de colunas cromatográficas são materiais amorfos, geralmente altamente porosos e conseqüentemente, apresentam área superficial bastante grande, podendo serem obtidas por diferentes rotas sintéticas, como descrito abaixo.

A) Hidrólise e polimerização de silicatos inorgânicos

Neste método emprega-se geralmente soluções de silicato de sódio em meio ácido, onde no final do processo se obtém partículas de tamanhos irregulares. Devido a fonte de obtenção destes silicatos, que provém da dissolução de areia de sílica com hidróxido de sódio, a sílica obtida através dessa rota pode apresentar contaminantes como ferro e alumínio [2].

B) Hidrólise e polimerização de alcoxissilanos

Na utilização de alcoxissilanos, como reagente precursor, se obtém materiais com um alto grau de pureza, uma vez que estes tipos de reagentes são produzidos em larga escala pela reação de esterificação de tetracloreto de silício e o respectivo álcool. A purificação dos produtos da reação é então feita através de uma simples

destilação. Nesta síntese se emprega a rota sol-gel, que consiste inicialmente na hidrólise do alcoxissilano, que deve ser catalisada pela adição de ácido ou base [3,4].

Paralelamente à reação de hidrólise ocorre a polimerização, formando o gel propriamente dito. Como se deseja obter partículas irregulares, este gel é envelhecido formando um sólido, que é então triturado e calcinado a fim de eliminar as moléculas orgânicas, que eventualmente ficam adsorvidas sobre o sólido.

Para a obtenção de partículas esféricas é necessário empregar o método da emulsão antes do envelhecimento do gel, que consiste basicamente na adição de um surfactante no meio reacional, para estabilizar os colóides formados. A velocidade da agitação desta mistura controla o tamanho das partículas e após a agregação destes colóides, se sintetiza um sólido, que também é aquecido para eliminar a parte orgânica do surfactante empregado, obtendo-se partículas extremamente uniformes e esféricas [5].

C) Hidrólise térmica de SiCl_4

As sílicas pirogênicas são obtidas pela hidrólise de SiCl_4 em altas temperaturas. Aerosil e Cab-o-Sil são as mais comumente encontradas no mercado. Elas são partículas extremamente pequenas, não porosas e apresentam formato esférico e possuem baixa densidade. Por esse motivo, estas sílicas não são usadas em cromatografia, sendo que sua maior aplicação é como agente tixotrópico em formulações de tintas e cremes, e do ponto de vista acadêmico, é bastante estudada por várias técnicas espectroscópicas [5].

1.3 A superfície e a estrutura da sílica

A sílica gel pode ser considerada como um polímero inorgânico formado por unidades tetraédricas SiO_4 . Os átomos de silício internos tendem a manter sua coordenação tetraédrica com o oxigênio formando a ligação siloxano ($\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$). Os silícios mais externos completam seu número de coordenação através da ligação com grupos hidroxilas, formando os chamados grupos silanóis ($\equiv\text{Si-OH}$).

Na superfície também podem existir grupos siloxanos expostos. Os grupos silanóis são considerados como fortes sítios de adsorção no processo cromatográfico, enquanto que os grupos siloxanos são considerados hidrofóbicos [5].

A ligação $\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$ é relativamente estável devido à retrodoação eletrônica do par de elétrons do oxigênio para o orbital *d* vazio do átomo de silício. Esta deslocalização eletrônica faz com que a basicidade de Lewis do átomo de oxigênio diminua consideravelmente, não podendo interagir com moléculas doadoras, contendo prótons, através de ligações de hidrogênio.

Entretanto, o carácter hidrofóbico da ligação siloxano, torna possível a retenção de moléculas apolares. Foi verificado experimentalmente que propilbenzeno ficava retido em uma coluna recheada com sílica pura, empregando-se uma fase móvel com uma grande porcentagem de água. O sítio hidrofóbico do grupo siloxano pode ser considerado como um centro de interações do tipo fase reversa, quando fases móveis aquosas são empregadas [6].

Os silanóis, do ponto de vista cromatográfico, são muito mais interessantes do que os grupos siloxanos. Os silanóis podem existir na superfície nas formas: livre (ou isolado), geminal e vicinal (ou ligado). Um par de silanóis vicinais também pode ser chamado de um par ligado.

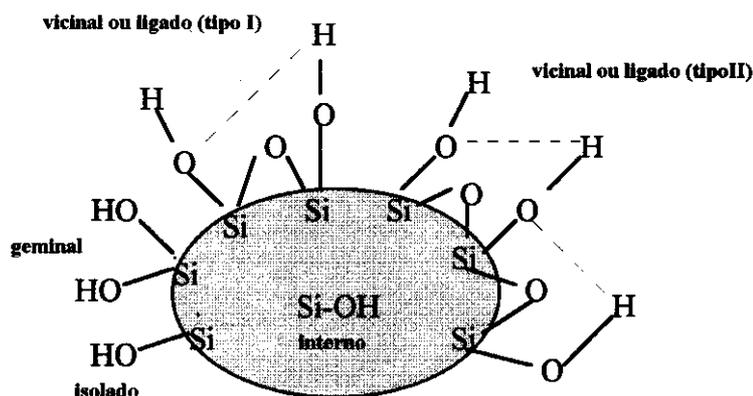


Fig. 1: Representação dos tipos de silanóis presentes na superfície da sílica [5].

Os trabalhos, até os dias atuais, indicam que a superfície da sílica é composta basicamente por grupos silanóis e siloxanos. Os silanóis existem nas três formas descritas acima. Os grupos silanóis ligados podem formar duas ou mais espécies. A hidrofobicidade dos grupos siloxanos permite que haja uma interação do tipo fase reversa com solutos apolares em Cromatografia Líquida, quando são empregadas fases móveis aquosas.

1.4 Silanóis: métodos de determinação

Uma grande quantidade de métodos químicos e físicos podem ser usados para determinar a concentração de silanóis. Todos esses métodos exigem o uso da sílica extremamente seca e sem a presença de moléculas de água adsorvidas na sua superfície. Geralmente a água pode ser facilmente removida sob aquecimento, sempre tomando os cuidados experimentais, para que não haja a formação da primeira camada de hidratação por ligações de hidrogênio. A presença de água conduz a valores incorretos, uma vez que praticamente todos os reagentes químicos utilizados na quantificação dos silanóis reagem com água. Está muito bem estabelecido que o aquecimento da sílica a temperatura de 200 °C é suficiente para promover a retirada total das moléculas de água [5].

Entre os métodos mais frequentemente utilizados, pode-se destacar a, espectroscopia no infravermelho (incluindo FT-IR) e mais recentemente a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{29}Si com as técnicas de polarização cruzada e rotação do ângulo mágico (CP-MAS). Os métodos físicos são os mais versáteis, quando são desejadas medidas qualitativas. A vantagem desses métodos é a possibilidade de poder distinguir os diferentes tipos de grupos silanóis. Por exemplo, no infravermelho distingui-se os grupos silanóis livres dos ligados, mas é impossível a diferenciação entre grupos livres e os geminais. Por outro lado, a técnica de RMN de ^{29}Si consegue diferenciar os grupos silanóis livres dos geminais, mas não é possível distinguir os vicinais (ligados do tipo I e II) dos livres (ou

isolados). Entretanto, outro método de RMN (MAS-RMN-¹H) consegue fazer a diferenciação entre os grupos livres e os vicinais ligados [5].

Os métodos químicos mais empregados para a determinação quantitativa dos grupos silanóis na superfície da sílica são:

- a) troca isotópica com água deuterada (D₂O) ou amônia deuterada (ND₃)
- b) titulação com NaOH na presença de sal (NaCl)
- c) reação com organolítio (ex: metil-lítio)
- d) reação com reagente de Grignard
- e) reação com dimetilzinco
- f) reação com compostos organoboro ou diborano

A perda de massa da sílica após a calcinação a 1200 °C também pode ser útil na determinação da concentração de silanóis na superfície da sílica, entretanto, a alta temperatura faz com que seja determinado também os silanóis internos.

A quantificação com reagentes organometálicos é bastante dispendiosa, uma vez que a reação tem que ser feita em atmosfera inerte e anidra. Além disso, a maioria destes reagentes formam complexos com o solvente do meio reacional, tornando-se moléculas volumosas. O resultado da concentração dos grupos silanóis fica ligeiramente abaixo do real devido à inacessibilidade dos reagentes organometálicos nos poros da sílica. Porém, resultados satisfatórios são obtidos quando a sílica a ser analisada, não possui poros menores que 5 nm [5].

O resultado, utilizando o método da troca isotópica pelo uso de água ou amônia deuterada, é o mais próximo do real e vários trabalhos nesta área relatam que a concentração dos silanóis na superfície da sílica é de $8,0 \pm 1 \mu\text{mol m}^{-2}$. Este valor muitas vezes é aceito como uma constante fisico-química [7].

Entretanto, alguns estudos [8] apresentam valores relativamente menores para a concentração dos silanóis de sílicas cromatográficas que é da ordem de $5,5 \pm 1 \mu\text{mol m}^{-2}$. Estes valores diferem de um tipo de sílica para outro, devido aos diferentes métodos de fabricação, que geralmente envolvem algum tipo de

tratamento térmico. Se a sílica não for reidroxilada pelo fabricante, sua superfície jamais pode ser considerada como totalmente hidroxilada.

De acordo com Köhler [9,10], uma superfície totalmente hidroxilada contém mais silanóis do tipo vicinal (ou ligados I e II) e sua utilização é mais útil para fins cromatográficos. Sílicas com baixa concentração de silanóis contém um número relativamente alto de grupos silanóis livres (ou isolados).

O uso de clorossilanos ou hexametildissilazano (HMDS) para a determinação de silanóis é pouco utilizado, uma vez que o tamanho do reagente afeta consideravelmente o resultado final. Porém, se é desejável saber a concentração dos “*silanóis acessíveis*”, este método pode ser uma excelente opção. Deve ser considerado que o número dos “*silanóis acessíveis*” decresce com o aumento do tamanho do reagente químico utilizado [8].

De uma maneira geral, pode se afirmar que a troca isotópica traz o melhor resultado da concentração de grupos silanóis na superfície da sílica. Os resultados do aquecimento da sílica à 1200°C fornecem a concentração total dos silanóis, inclusive os que se encontram no interior da estrutura da sílica. A determinação com os compostos organometálicos fica restrita a uma faixa de tamanho de poro da sílica a ser analisada. Os *silanóis acessíveis* podem ser determinados utilizando os clorossilanos ou HMDS. Dependendo da procedência da sílica cromatográfica, esse material pode conter poucos grupos silanóis, abaixo do valor aceito de 8 $\mu\text{mol m}^{-2}$ [5].

1.5 O efeito do aquecimento na estrutura da sílica

Os grupos silanóis da superfície da sílica podem ser facilmente removidos por aquecimento, onde ocorre a formação de uma ligação siloxano e a liberação de moléculas de água. Como este método pode ser utilizado na quantificação dos silanóis é importante saber o comportamento da água adsorvida por pontes de hidrogênio.

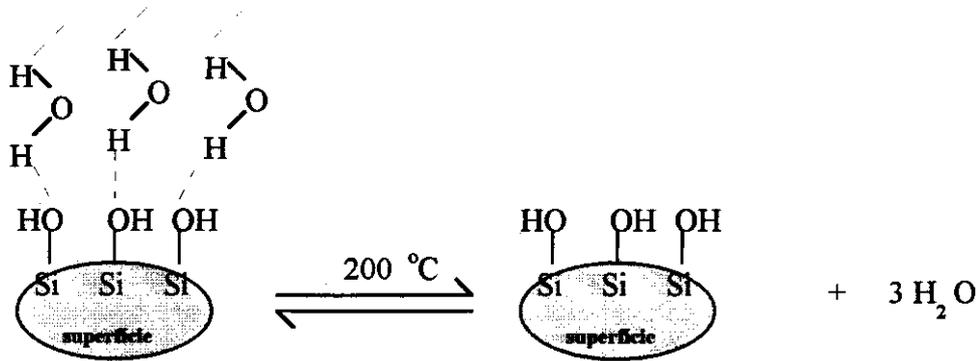


Fig. 2: Esquema da desidratação reversível de uma superfície de sílica [5].

O aquecimento do material à 200°C, durante um certo período, retira as camadas de moléculas de água, obtendo uma superfície anidra (figura 2). O aumento contínuo da temperatura até 400°C resulta na reação de desidroxilação dos silanóis vicinais, e conseqüentemente na superfície só são encontrados os silanóis livres. Se a temperatura não exceder 600°C, o grupo siloxano formado reidroxila novamente, quando exposto à vapores de água.

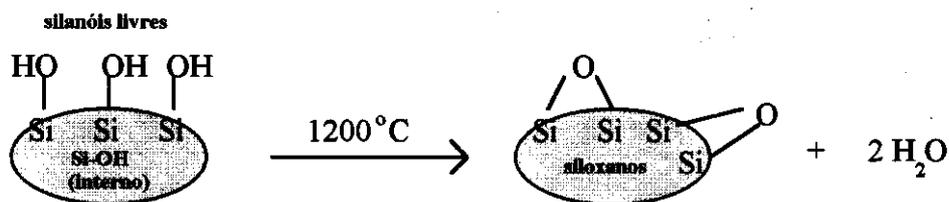


Fig. 3: Esquema da desidroxilação irreversível na superfície da sílica [11].

O aquecimento à 1200 °C promove uma desidroxilação total e irreversível na superfície do óxido como mostra a figura 3 e o caráter amorfo do material vai sendo lentamente perdido, devido à formação da estrutura cristalina do quartzo. A superfície, que inicialmente era hidrofílica, passa a ser totalmente hidrofóbica [11].

1.6 Sililação da superfície da sílica

A modificação da superfície da sílica com agentes sililantes tem como objetivo principal unir em um só material as propriedades químicas da cadeia

orgânica, imobilizada covalentemente à matriz inorgânica, com a rigidez mecânica e a estabilidade térmica hidrolítica do óxido inorgânico [12].

Os agentes sililantes hidrolizáveis mais comuns podem ser representados por $(Y)_3\text{-Si-R-X}$, onde X representa o grupo funcional reativo da molécula orgânica, R o espaçamento de uma cadeia, normalmente tem-se o grupo $(\text{CH}_2)_3$ entre o átomo de silício e o grupo terminal X. Já o grupo Y pode ser cloro (Cl) ou alcóxido (OR'), sendo o segundo centro reativo deste reagente, que é facilmente sensível à hidrólise, mesmo na presença de traços de umidade [13].

A ligação $\equiv\text{Si-C}$ é bastante estável devido às propriedades específicas do átomo de silício, que possui baixa acidez de Lewis, formando uma ligação apolar $\equiv\text{Si-C}$ e é responsável pelo sucesso destes reagentes, onde se estabelece a ligação química efetiva entre a matriz inorgânica e a parte orgânica. Os grupos hidrolizáveis triclorossilil ou trialcoxissilil apresentam alta reatividade química frente a grupos hidroxilas, permitindo uma ligação química entre as moléculas orgânicas do agente sililante e a superfície hidroxilada [13]

A obtenção de sílicas modificadas pode ocorrer por três diferentes rotas de síntese, dependendo da aplicação final do material.

1.6.1 Método sol-gel.

Neste processo a incorporação do agente sililante na sílica ocorre simultaneamente à formação da rede inorgânica da sílica. O processo consiste na utilização de tetraetoxissilano (TEOS), responsável pela formação do esqueleto da sílica, juntamente com o agente sililante que se deseja incorporar. Inicialmente, o TEOS e o outro sililante são misturados, em uma proporção já estabelecida, em uma mistura contendo água e etanol, seguida da adição do catalisador (que pode ser base ou ácido) para promover a hidrólise. Nesta polimerização tem-se a formação do híbrido inorgânico-orgânico [14].

O grau de organofuncionalização da superfície pode ser controlado através da escolha prévia da proporção de TEOS e o outro silano. Os materiais obtidos

apresentam um alto grau de pureza e homogeneidade, entretanto, não se consegue controlar o tamanho e o formato das partículas formadas e nem o grau de polimerização do agente sililante. A utilização destes materiais para cromatografia ainda se encontra em desenvolvimento, onde requer o aprimoramento deste processo para torná-lo mais reprodutível e obter partículas mais uniformes [15].

1.6.2 Método de recobrimento em condições anidras

No processo de sililação por recobrimento, é necessário realizar a ativação dos grupos silanóis da superfície da sílica através do aquecimento sob vácuo, para a retirada da água adsorvida por ligações de hidrogênio. Em seguida, procede-se a modificação da superfície da sílica gel através da reação dos grupos silanóis com cloro ou alcoxissilanos sob agitação e aquecimento como mostra a reação genérica na figura 4.

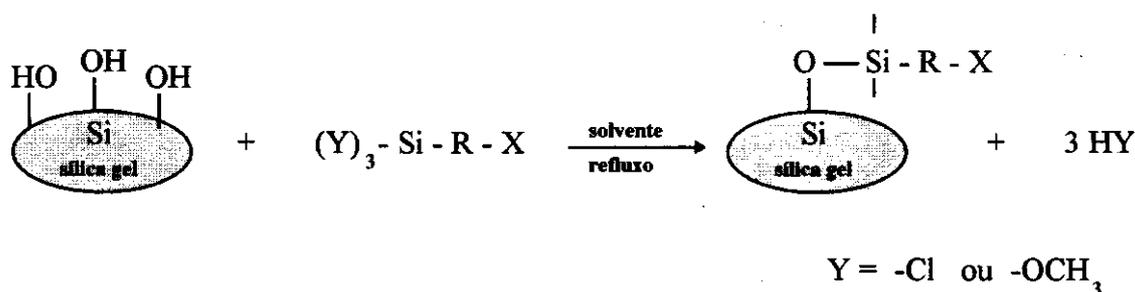


Fig.4: Esquema da sililação da superfície da sílica em condições anidras [14].

Nesta reação as condições devem ser muito bem controladas evitando principalmente a presença de água, que pode hidrolisar o agente sililante. O grupo R representa a cadeia orgânica (CH₂)_n e X, o grupo funcional. Quando a reação é realizada em condições anidras, tem-se a formação de uma fase do tipo monomérica sobre toda a superfície do sólido. Isso faz com que se obtenha um processo bastante reprodutível. Dependendo do tipo do agente que se deseja imobilizar, principalmente os clorossilanos de cadeias alifáticas longas, se faz necessário o uso de um catalisador para facilitar a reação de condensação dos grupos cloro com os silanóis da superfície. Geralmente, emprega-se uma base receptora de prótons que

pode ser aminas terciárias ou até mesmo amônia. O mecanismo já foi estudado por vários pesquisadores e vários trabalhos comprovaram um maior grau de modificação, quando se utilizou o catalisador [16,17]. Sabe-se que nesse processo, nem todos grupos silanóis presentes na superfície da sílica conseguem reagir, o que pode ser um problema indesejável quando se utiliza este material em separações cromatográficas.

1.6.3 Recobrimento da superfície da sílica na presença de água

O processo consiste basicamente na pré-hidrólise do respectivo agente sililante, onde nesta etapa se formam novos grupos silanóis, os quais posteriormente reagem com os silanóis da superfície da sílica. Nesta reação se estabelecem as ligações do tipo siloxano ($\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$) entre o substrato inorgânico e os átomos de silício do organossilano com a eliminação de água. Como solvente se utiliza uma mistura de álcool/água ou acetonitrila/água, a fim de aumentar a solubilidade do clorossilano ou alcoxissilano no sistema [18].

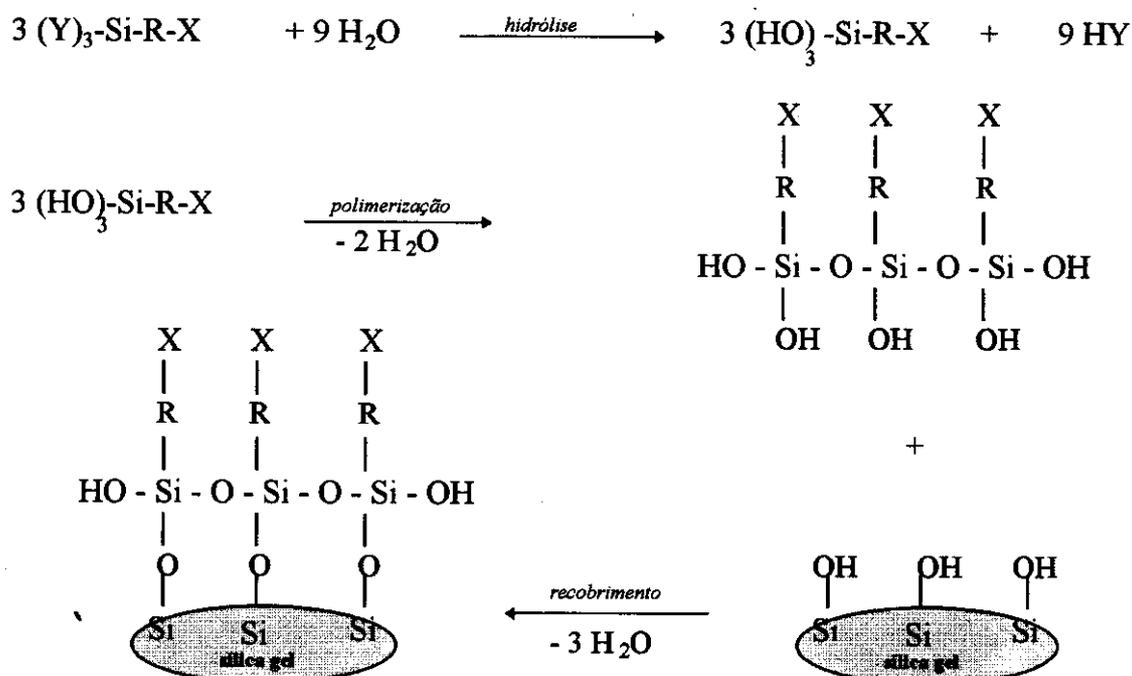


Fig. 5: Hidrólise, polimerização e deposição do silano na superfície da sílica [12].

De acordo com o mecanismo proposto na figura 5, as moléculas do agente sililante podem sofrer polimerização em todas as direções, formando uma rede polimérica tridimensional sobre toda a superfície da sílica. O material obtido por essa rota apresenta um alto grau de organofuncionalização. Essa rota para a síntese de fases estacionárias (do tipo ligada) para cromatografia tem sido bastante utilizada, devido à estabilidade deste tipo de fase em comparação com as fases do tipo monomérica [19]. Entretanto, a formação da ligação covalente entre o suporte e o pré-polímero não é imediata, sendo necessário uma etapa de cura sob aquecimento a vácuo. A reação de polimerização dos silanos é difícil de ser controlada e dessa maneira, o processo torna-se pouco reprodutível.

1.7 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia é definida como um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição destes entre duas fases. Uma das fases permanece estacionária, enquanto a outra move-se através dela. Devido à diferença nos coeficientes de distribuição de cada um dos analitos nas respectivas fases, obtém-se velocidades de eluições diferentes, de tal modo que o composto menos retido na fase estacionária é eluído primeiramente [20].

O sucesso de qualquer separação depende da escolha correta do tipo de fase estacionária e do tipo de fase móvel.

Na CLAE, a fase móvel (FM) é bombeada sob alta pressão a uma vazão controlada. Uma pequena quantidade de amostra é introduzida por meio de uma válvula de injeção. A amostra é então arrastada pela FM, passando pela coluna, onde ocorre a separação cromatográfica, e então os componentes da mistura chegam ao detector, o qual envia um sinal ao registrador [21].

As colunas utilizadas são recheadas com fases estacionárias (FE), que são geralmente constituídas de pequenas partículas, cujo tamanho varia de 3 a 10 μm . A FM, contendo os componentes da amostra ao sair da coluna chega ao detector onde

um sinal, proporcional à concentração do analito, é enviado ao registrador ou integrador ou microcomputador.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência é uma importante técnica de separação, sendo ferramenta analítica indispensável em diversas áreas como: isolamento, produção e quantificação de produtos químicos, monitoramento e controle do meio ambiente [22], controle de qualidade de drogas e fármacos [23], análise de alimentos [24,25] e biotecnologia [26,27].

1.7.1 Tipos de fases estacionárias empregadas em CLAE

A) Fase Sólida

Nos dias atuais, ainda se executam separações com colunas recheadas com partículas de sílica nua e uma fase móvel composta por uma mistura de solventes apolares do tipo hexano, juntamente com diclorometano. Devido ao fato desse procedimento ter sido a maneira mais comum de operar o sistema, este tipo de separação foi chamada de *fase normal* [28].

Com a separação através da utilização de fases estacionárias do tipo normal, o controle da química da superfície da sílica é essencial para promover a separação desejada. Um problema na utilização desta fase está relacionado com o controle da quantidade de água presente na fase móvel. No hexano, por exemplo, a solubilidade da água é de aproximadamente 0,2 %. Mudanças na quantidade de água no solvente causa o alargamento de pico e muda o tempo de retenção dos analitos.

Outra dificuldade é aplicar esta técnica em amostras aquosas. A maioria das amostras ambientais ou biológicas possuem uma quantidade considerável de água. A dissolução deste tipo de amostra em solventes orgânicos sempre requer etapas de extração e secagem, as quais seriam desnecessárias se uma fase móvel hidroorgânica fosse utilizada [28].

B) Fase Líquida

O nome de fase estacionária do tipo *líquida* é originada pelo desenvolvimento de fases estacionárias recobertas com um líquido que ficava preso

nos poros da sílica através de forças eletrostáticas ou de van der Waals. No passado a utilização deste tipo de suporte não foi muito bem sucedida, uma vez que se utilizavam fases móveis apolares e os compostos utilizados no recobrimento do suporte também eram líquidos de baixa massa molar, que eram arrastados da coluna pela passagem da fase móvel [28].

A vida útil destas colunas era pequena, uma vez que o polímero era bastante solúvel na fase móvel e conseqüentemente ele era arrastado do poro do suporte cromatográfico. Até então, resolveram trocar o hexano por uma fase mais polar como por exemplo metanol/água. Este foi um dos maiores avanços na cromatografia líquida, onde permitiu o desenvolvimento das colunas do tipo *fase reversa* [28].

O nome *fase reversa* originou pelo fato de que neste novo procedimento cromatográfico, passou a utilizar uma fase móvel polar e uma estacionária apolar, de maneira contrária (reversa) ao método convencional. Até os dias atuais, a Cromatografia Líquido-Líquido de fase reversa é utilizada em separações [29].

C) Fase Quimicamente Ligada

O desenvolvimento tecnológico da síntese dos silanos organofuncionais, a partir de 1940, permitiu aos químicos desenvolver colunas recheadas com partículas de sílica quimicamente modificadas. A expressão "*quimicamente ligada*" é devido à ligação covalente entre o suporte inorgânico e as cadeias de moléculas orgânicas do agente sililante empregado.

A maioria das fases estacionárias disponíveis comercialmente são do tipo fase ligada. Sua produção industrial envolve a reação de sililação em condições anidras, empregando-se clorossilanos ou alcoxissilanos monofuncionais para evitar a polimerização e principalmente a presença de grupos silanóis residuais [28].

De acordo com o grupo funcional ligado covalentemente à superfície da sílica através das ligações do tipo siloxano, obtém-se dois tipos de fase estacionária:

C.1) normal ou polar, quando na cadeia orgânica o grupo funcional reativo X é amina ($-\text{NH}_2$), ou ciano ($-\text{C}\equiv\text{N}$) ou diol.

C.2) reversa ou apolar, quando a cadeia orgânica é um hidrocarboneto alifático ou aromático. Dentre os alifáticos, os grupos mais utilizados são n-octil (C_8), n-octadecil (C_{18}), mas cadeias pequenas tais como metil, propil e n-butil podem ser empregadas. O grupo aromático mais utilizado comercialmente é o grupo fenil. As colunas mais vendidas atualmente são as colunas recheadas com sílica modificada com agentes sililantes de cadeias alifáticas longas do tipo C8 e C18.

D) Fase Quiral

A preparação de compostos opticamente ativos têm sido extensivamente estudada em vários campos da química. Por muito tempo, as substâncias opticamente ativas eram extraídas de compostos orgânicos encontrados na natureza. Entretanto, nas últimas décadas consegui desenvolver rotas sintéticas adequadas para a preparação de compostos que apresentam quiralidade [30].

As técnicas cromatográficas, especialmente a CLAE, tem sido amplamente empregadas na separação de uma mistura racêmica de compostos orgânicos. Existem basicamente três técnicas para realizar este tipo de separação. A primeira consiste na formação de um par de diastereoisômeros usando reagentes químicos opticamente ativos. A partir desta reação de formação do par de diastereoisômeros, estes são separados em uma coluna não quiral. O segundo consiste na adição de aditivos quirais na fase móvel e o último a utilização de fases estacionárias quirais.

A preparação destas fases envolve a imobilização de novas moléculas orgânicas em sílicas já modificadas com sililantes do tipo amino, diol e também cloropropil. Os trabalhos mais recentes prepararam fases estacionárias quirais derivadas da reação da sílica previamente modificada com aminoácidos [31-33], celulose [34], ciclodextrina [35], antibióticos [36-38], éter coroa [39] e albumina sérica bovina e também a humana [40].

O mecanismo de reconhecimento molecular está baseado no fato de que só os compostos de geometria apropriada irão ficar mais tempo retido na coluna, que contém um composto opticamente ativo, ligado covalentemente. Além deste tipo de

interação, também denominada de interação estérica, podem ocorrer interações do tipo dipolo-dipolo, interações $\pi - \pi$ e por ligações de hidrogênio [30].

E) Fase de Troca de Ligantes

O conceito de Cromatografia de Troca de Ligantes foi introduzido por Helfferich em 1961 [41], onde muitas separações foram realizadas com os íons Cu (II), Co (II), Ni (II), Cd (II), e Zn (II), presos ao suporte cromatográfico.

Os suportes geralmente utilizados eram resinas poliméricas que continham grupos sulfônicos, carboxílicos ou iminoacéticos, os quais se coordenavam aos metais. Porém como as resinas possuíam baixa rigidez mecânica, ficavam restritas à utilização de baixas pressões (baixa vazão da fase móvel). Com isso os tempos de retenção dos compostos eram muito longos. Além desse fator limitante, o alargamento de pico era frequente, porque a resina proporcionava uma grande resistência à transferência de massa, diminuindo drasticamente a eficiência [42].

Na década de 1970 começaram a utilizar a sílica, um material com maior rigidez mecânica em relação às resinas, com íons adsorvidos para obter a separação desejada. Muitos trabalhos utilizaram íons Ag^+ e também Cd^{2+} na separação de aminas aromáticas [43].

Os cátions metálicos eram impregnados na superfície da sílica através de uma interação com os grupos silanóis. Esta interação fraca fazia com que estes íons fossem arrastados da coluna com a passagem contínua da fase móvel e conseqüentemente os tempos de retenção e a separação cromatográfica não eram reprodutíveis. Uma das alternativas encontradas foi a adição de um sal do respectivo cátion na fase móvel, porém surgiram interferências, principalmente quando se utilizava o detector de absorção no ultravioleta [42].

Um dos experimentos bem sucedidos consistia na separação de aminoácidos por Cromatografia de Troca de Ligantes, utilizando uma coluna impregnada com íons Cu^{2+} e uma fase móvel composta por um solvente orgânico e uma solução aquosa de amônia e cloreto de cobre (II) [43]. Porém mesmo utilizando uma pré-

coluna para saturar a fase móvel, a durabilidade da coluna não ultrapassava a duas semanas em operação contínua. Esta dificuldade é devido à baixa estabilidade da sílica em soluções aquosas alcalinas.

Um dos trabalhos desenvolvidos nesta área foi o de Grushka e Chow [44], onde realizaram a separação de uma série de amins aromáticas utilizando como fase estacionária a sílica contendo grupos propilamina ligados quimicamente e com íons Cu^{2+} complexados. Os autores enfocam o grande avanço em obter uma coluna estável, sem os problemas de arraste do íon pela ação da fase móvel.

1.8 O comportamento dos grupos silanóis residuais

Apesar das fases tipo reversa C8 e C18 poderem ser utilizadas para diferentes tipos de amostras, ainda se investe muito no desenvolvimento de colunas mais estáveis em fases móveis hidroorgânicas em uma ampla faixa de pH, e também no melhoramento da qualidade dos suportes inorgânicos, para minimizar o alargamento dos picos cromatográficos, quando amostras básicas são analisadas.

Uma das alternativas encontradas para estes tipos de problemas é a desativação dos grupos silanóis residuais. Como se sabe, quando se procede a modificação química da superfície da sílica, consegue-se reagir apenas 50 % dos grupos silanóis disponíveis, devido aos problemas de impedimento estérico, os agentes sililantes não conseguem atingir os grupos silanóis. Estes grupos podem ser desativados, através de uma segunda etapa de reação com outro agente sililante do tipo clorotrimetilsilano, sendo menos volumoso, diminui o impedimento estérico, ou ainda através da adição de modificadores orgânicos na fase móvel ou também na escolha prévia de novos agentes sililantes monofuncionais, disponíveis comercialmente, os quais apresentam substituintes volumosos no átomo de silício do tipo isopropila ou terc-butila [28].

Nesta operação não se consegue uma desativação efetiva, ficando ainda grupos silanóis, que durante o processo de separação podem causar o alargamento de pico de amostras básicas e até mesmo uma adsorção quase irreversível. Outro

fato que convém ressaltar aqui, é que os grupos silanóis controlam muitos processos de separação, e na ausência dos mesmos o processo seria dificultado.

Um dos desafios para os químicos, que trabalham no desenvolvimento de colunas para cromatografia, é desenvolver novas fases estacionárias similares às C_8 e C_{18} , porém com funções químicas específicas capazes de diminuir os efeitos indesejáveis dos grupos silanóis.

1.9 Avaliação de colunas

Quando uma coluna é nova, seja ela adquirida comercialmente ou através de enchimento no próprio laboratório, devem ser feitos os cálculos dos parâmetros cromatográficos, a fim de avaliar o potencial desta coluna para futuras separações cromatográficas. Estes cálculos são realizados com os dados experimentais obtidos em um cromatograma típico, como mostra a figura 6.

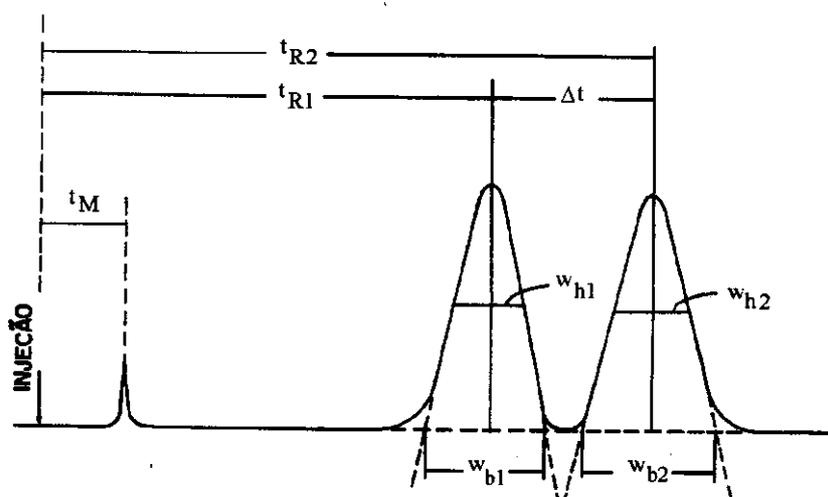


Fig. 6: Cromatograma típico obtido na separação de uma mistura de dois componentes [21].

O tempo de retenção do analito, t_{Ri} é o tempo gasto desde o momento da injeção até a detecção máxima da banda. O tempo de retenção de um composto não retido, t_M , é o tempo gasto por ele para percorrer todo o sistema cromatográfico desde a injeção até a saída da coluna. Estes valores são obtidos diretamente do cromatograma quando se tem o integrador [21].

O tempo de retenção ajustado, t'_R , é o tempo real que as moléculas do analito ficam retidas na fase estacionária, calculado por:

$$t'_R = t_R - t_M$$

O fator de retenção k é determinado pela razão dos tempos em que as moléculas do analito ficam retidas na fase estacionária ou percorrendo a coluna na fase móvel:

$$k = (t_R - t_M) / t_M$$

A resolução R_s é a medida quantitativa do grau de separação entre dois picos adjacentes e pode ser calculada de acordo com a equação:

$$R_s = 1,177 (t_{R2} - t_{R1}) / (w_{h1} + w_{h2})$$

onde t_{R2} e t_{R1} são os tempos de retenção dos dois analitos e w_{h1} , w_{h2} são as larguras dos picos a meia altura.

O fator de separação α entre dois picos adjacentes é calculada pela razão entre k_2 (do soluto mais retido) e k_1 (do soluto menos retido) :

$$\alpha = k_2 / k_1.$$

A eficiência ou número de pratos N é a medida do número de etapas de equilíbrio do analito entre a fase móvel e a fase estacionária, calculada por meio da equação :

$$N = 5,545 (t_R / w_h)^2$$

A altura do prato H é a razão entre o comprimento da coluna (L) e o número de pratos (N), que pode ser calculado por $H = L/N$.

A eficiência de uma coluna depende da vazão que se utiliza e este comportamento pode ser verificado empregando a equação de van Deemter, que matematicamente pode ser expressa como:

$$H = A + (B / \mu) + C \cdot \mu.$$

A figura 7 mostra o formato desta curva e as várias contribuições de cada um dos termos.

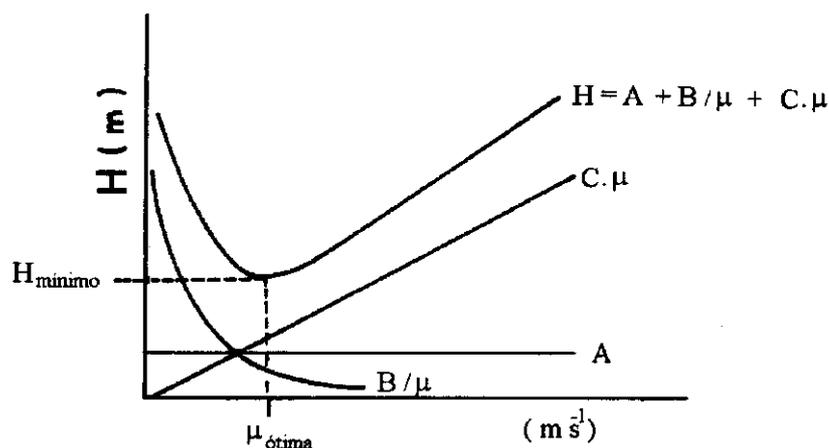


Fig. 7: Curva de van Deemter mostrando as contribuições dos vários termos e a velocidade linear ótima [21].

O termo A, chamado de difusão turbilhonar, refere-se ao alargamento dos picos devido aos caminhos múltiplos percorridos pelas moléculas do analito. O termo B é devido à difusão longitudinal ao longo da coluna e o termo C está relacionado com a velocidade de transferência de massa, ou seja, com a facilidade que as moléculas do soluto têm em serem transferidas da fase móvel para a fase estacionária ou vice-versa [21].

O fator de assimetria A_s é medido a 10 % da altura do pico como mostra a figura 8. O valor ótimo é de 0,9 até 1,2, se for maior, aumentam-se os erros no cálculo de N. Valores de até 1,6 são aceitáveis, porém valores maiores a este devem ser evitados e as colunas descartadas, indicando problemas na sua preparação [21].

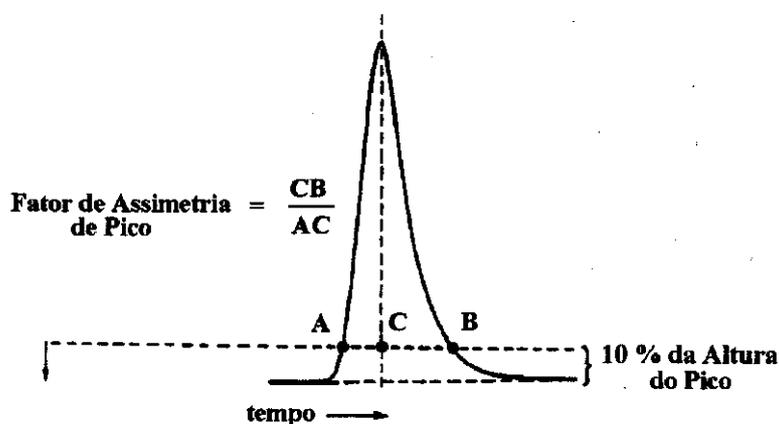


Fig. 8: Esquema de cálculo do fator de assimetria de um pico a 10 % de sua altura.

2) Objetivos

O objetivo deste trabalho foi a obtenção de sílica modificada com AEAPTS, contendo o grupo etilenodiamina ancorado e a sua aplicação como fase estacionária em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Para isso a sílica gel cromatográfica sofreu reação com o agente sililante: [3-(2-aminoetil)-aminopropil]trimetoxissilano (AEAPTS) pelo método do recobrimento em condições anidras, através da reação com os grupos silanóis da superfície do óxido inorgânico. Para tornar a superfície mais hidrofóbica, a mesma foi tratada com o agente clorotrimetilsilano.

As superfícies foram ancoradas para posterior utilização em separações cromatográficas, sendo estudada a participação dos íons Cu (II) complexados pelos grupos etilenodiamina pendentos no suporte inorgânico.

A técnica proposta foi a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) onde as colunas recheadas com as sílicas contendo ou não o cátion, no propósito de testar duas misturas testes, sendo a primeira composta por alguns hidrocarbonetos poliaromáticos: benzeno, naftaleno, antraceno, pireno e nitrobenzeno e a segunda por anilina e N,N-dietilanilina.

3) Procedimento experimental

3.1 Reagentes e solventes empregados

- ácido clorídrico p.a., Nuclear
- ácido nítrico p.a., Merck
- água desionizada ultra pura, sistema Milli-Q da Millipore
- anilina p.a., Merck
- antraceno p.a., Aldrich
- benzeno p.a., Merck
- cloreto de cobre hexaidratado p.a., Merck
- clorotrimetilsilano, Aldrich
- diclorometano para cromatografia, Merck
- etanol p.a. Nuclear
- hexano para cromatografia, Merck
- hidróxido de sódio p.a. Merck
- metanol para cromatografia, Merck
- [3-(2-aminoetil)aminopropil]trimetoxissilano, Aldrich
- N,N dietilanilina p.a., Carlo Erba
- naftaleno p.a., Aldrich
- nitrobenzeno p.a., Merck
- óxido de zinco p.a., Carlo Erba
- pireno p.a., Aldrich
- sílica gel Davisil, Alltech
- tolueno p.a., Merck

- cloreto de potássio p.a.Nuclear
- sal dissódico de EDTA p.a., Carlo Erba

3.2 Gás Empregado

- Nitrogênio, White Martins

3.3 Coluna de CLAE comercial

- Bondesil-NH₂, com tamanho de partícula de 5 µm, comprimento de 250 mm e diâmetro interno de 4.2 mm, da Varian.

3.4 Modificação da Sílica Gel

3.4.1 Reação da Davisil sílica com [3-(2-aminoetil)-aminopropil]trimetoxissilano (AEAPTS) pelo método do recobrimento.

Nesta síntese foi utilizada a Davisil sílica gel fornecida pela Alltech Associates de forma de partícula irregular com tamanho de partícula de 10 µm, diâmetro dos poros de 6 nm, área superficial de 387 m² g⁻¹ e volume de poros de 1,24 cm³ g⁻¹ e 0,50 mmol de grupos OH por grama de sílica, determinado experimentalmente pela titulação potenciométrica.

Inicialmente, uma massa de 10,0 g (5,0 mmol de grupos Si-OH) desta sílica foi aquecida a uma temperatura de 100°C sob vácuo, durante aproximadamente 8 h a fim de remover a água que se encontrava adsorvida. Em seguida esta sílica ativada foi transferida rapidamente para um balão de três bocas contendo 100 cm³ de tolueno seco. Sob agitação mecânica foram adicionados no meio reacional 10 cm³ (45 mmol) de (CH₃O)₃Si-(CH₂)₃-NH-(CH₂)₂-NH₂ com o auxílio de uma seringa de 20 cm³. A mistura foi deixada sob agitação e refluxo em atmosfera nitrogênio durante 72 h. O sólido (sil-AEAPTS) foi filtrado em funil de placa porosa e lavado

várias vezes com tolueno e depois etanol para remover o excesso do alcoxissilano. Ao final do processo, o material resultante foi seco em linha de vácuo.

3.4.2 Reação da sil-AEAPTS com Clorotrimetilsilano

A reação de desativação dos grupos silanóis remanescentes na sil-AEAPTS foi realizada nas mesmas condições da reação com o agente sililante AEAPTS. A sílica modificada (5,0 g) foi seca sob vácuo a 60°C durante 48 h. O material foi então refluxado com 50 cm³ de tolueno seco na presença de 10,0 cm³ de clorotrimetilsilano [Cl-Si-(CH₃)₃]. A mistura foi deixada sob refluxo e agitação durante 72 h. O material resultante (sil-AEAPTS-CH₃) foi filtrado, lavado com porções de tolueno e etanol para remover o excesso do agente sililante. Este material foi seco sob vácuo a temperatura ambiente.

3.4.3 Adsorção de íons Cu²⁺ na sil-AEAPTS e sil-AEAPTS-CH₃

Uma massa de aproximadamente 0,50 g (3,7 mmol) de CuCl₂ anidro (sal de coloração marrom obtido por aquecimento a 60°C sob vácuo durante 3 h) foi dissolvida em 50 cm³ de metanol de grau cromatográfico. A esta solução de forte coloração verde, foram adicionados 3,0 g das sílicas, que apresentavam aproximadamente 0,92 mmol de nitrogênio por grama. Esta mistura ficou em agitação orbital durante 2 h e ao final da reação foi obtido um pó azul que foi lavado com várias porções de metanol no funil de placa porosa e seco novamente em linha de vácuo à temperatura ambiente.

3.5 Testes Químicos com as Sílicas

3.5.1 Determinação dos grupos silanóis na sílica.

Amostras da Davisil sílica de aproximadamente 0,50 g ($\pm 0,0001$ g) foram suspensas em 10 cm³ de uma solução de KCl 1,35 mol dm⁻³ em um béquer de 50

cm³. Sob agitação magnética foi introduzido na solução o eletrodo de vidro combinado (conectado ao pHmetro) e anotado o valor inicial do pH da suspensão. Com o auxílio de uma microbureta de 5,0 cm³, foi adicionada uma solução padronizada de NaOH 0,10 mol dm⁻³ em solução de KCl a 1,35 mol dm⁻³ até obter um valor de pH 9,0. O volume de base consumido nesta titulação potenciométrica foi anotado e então foi possível estimar a concentração dos grupos silanóis na superfície da sílica [45]. Pela análise feita em triplicata, foi obtido um valor médio de 0,500 ± 0,015 mmol de grupos silanóis por grama de sílica.

3.5.2 Determinação do teor de Cu²⁺ adsorvido nas sílicas .

Amostras de sil-AEAPTS-Cu²⁺ e sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ em torno de 0,50 g (± 0,0001 g) foram suspensas em 50,0 cm³ de uma solução de HNO₃ 2 mol dm⁻³ em um erlenmeyer de 125 cm³. Esta suspensão foi deixada em agitação orbital durante 24 h a fim de que todo o íon metálico fosse extraído. Em seguida esta suspensão foi filtrada em funil de haste longa com papel de filtro quantitativo. O sólido foi lavado com porções da solução de ácido e a solução sobrenadante foi recolhida em um balão volumétrico de 100,0 cm³ e depois acertado o menisco com ácido.

Uma alíquota de 15 cm³ da solução sobrenadante foi submetida à retrotitulação com EDTA e solução padronizada de Zn²⁺, ambas 0,010 mol dm⁻³, utilizando como indicador xilenol orange e hexametilenotetramina como tamponante. Sabendo-se o número de moles de EDTA adicionados no início da titulação, consegue-se determinar a concentração de Cu²⁺ no filtrado pela determinação do excesso de EDTA, que não reagiu com o cobre, com o uso da solução de Zn²⁺ [46]. A abertura da amostra foi feita em duplicata e cada retrotitulação foi feita em triplicata. Toda a vidraria utilizada neste experimento foi lavada inicialmente com solução de HNO₃ para remover os metais que se encontravam adsorvidos na parede dos frascos.

Paralelamente foi realizado outro experimento, onde a amostra de sílica foi submetida à reação com íons fluoreto. Após a abertura da amostra, o teor de íons Cu²⁺ na solução foi determinado por absorção atômica.

3.5.3 Análise elementar de C, H e N

Para determinar o teor de nitrogênio, hidrogênio e carbono e conseqüentemente o número de moles do ligante orgânico imobilizado na superfície, as amostras das sílicas foram submetidas ao analisador Perkin Elmer modelo 2400.

3.6 Testes físicos com as sílicas

3.6.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho

Foram obtidos os espectros FTIR na região de 4000 a 450 cm^{-1} do três diferentes materiais sólidos, utilizando a técnica de reflectância difusa no aparelho “Bomem MB Series”.

3.6.2 Espectroscopia na Região do Visível e Ultravioleta

Os espectros da sílica modificada com ions Cu^{2+} (sil-AEAPTS- $\text{CH}_3\text{-Cu}^{2+}$) foram obtidos na região de 250 a 900 nm no espectrofotômetro Beckman, utilizando uma suspensão do respectivo material em tetracloreto de carbono em cubetas de quartzo de caminho óptico de 1,0 mm.

3.6.3 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de ^{13}C e ^{29}Si foram obtidos no espectrômetro AC 300/P Bruker utilizando as técnicas CP/MAS, polarização cruzada e ângulo mágico, com tempo de contato de 5 ms para o silício e 2 ms para o carbono; tempo de repetição de 4s em ambos os casos [14]. As freqüências utilizadas foram de 59 e 75 MHz para carbono e silício respectivamente.

3.6.4 Medidas de Área Superficial

A área superficial das sílicas foi calculada usando a equação de BET. As isotermas de adsorção de nitrogênio a 77 K foram obtidas no analisador Flowsorb

modelo 2300. A área superficial fornece a extensão da superfície do material analisado e é expresso em relação a sua massa ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$).

3.6.5 Medidas do Volume Específico dos Poros (V_p)

O volume dos poros é expresso em função da quantidade de líquido adsorvido que preenche o volume total dos poros. Uma primeira aproximação é que o volume calculado é independente do tipo do líquido utilizado. A determinação foi feita utilizando a técnica de intrusão de mercúrio no porosímetro Porosizer modelo 9320 e o valor é usualmente expresso em $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$.

3.6.6 Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas foram obtidas através do analisador térmico da DuPont modelo 9900 onde, através de uma microbalança, se obteve a porcentagem de perda de massa da amostra com o aumento da temperatura. As amostras das sílicas foram aquecidas da temperatura ambiente até 1073 K a uma taxa de 5 graus por minuto, sob atmosfera de argônio.

3.6.7 Microscopia Eletrônica

A morfologia e o tamanho médio das partículas de sílica foram analisados através das imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para examinar este tipo de material não condutor, as amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro e carbono por um processo de metalização (Plasma Science Inc.). As imagens foram obtidas pela detecção de elétrons secundários no microscópio eletrônico de varredura Jeol JSTM-300.

3.7 Testes Cromatográficos

3.7.1 Enchimento de Colunas

3.7.1.1 Corpo e acessórios da coluna

As colunas para CLAE devem ser bastantes resistentes para suportar as altas pressões empregadas e ser bastante inerte frente aos diversos tipos de fase móvel. Para isso, um dos materiais mais utilizado é o aço inoxidável 316 L. A coluna consiste em um tubo de formato cilíndrico de comprimento de 150 mm e de diâmetro interno de 3,9 mm.

Estas colunas foram confeccionadas na oficina mecânica da UNICAMP. A superfície interna deve estar muito bem polida para não oferecer qualquer tipo de resistência ao escoamento do líquido e assim conseguir a máxima eficiência possível. Para isso foi utilizado o método de polimento desenvolvido no Laboratório de Cromatografia do IQ/UNICAMP [11].

A coluna, além do corpo de aço inox, é composta por outros acessórios que ficam conectados internamente e externamente nas extremidades da coluna:

- anilha de aço inox
- filtro sinterizado poroso de 2 μm
- redutor de fluxo de aço inox
- tampa para coluna
- terminal de latão
- tubo de alinhamento de aço inoxidável

3.7.1.2 Método de enchimento da coluna para CLAE

O método de enchimento mais adequado para rechear colunas com fase estacionária de tamanho de partícula menor que 20 μm é o da suspensão com alta pressão, pois quanto maior a área superficial, maior é a probabilidade de formação de cargas eletrostáticas, impossibilitando o enchimento por vibração a seco, devido à formação dos aglomerados. Dentre os vários métodos propostos pela literatura foi escolhido o método da suspensão a 10 %, utilizando uma mistura de dois solventes que foram tolueno e cicloexanol [47]. Ambos têm densidades aproximadas a da

sílica que vai ser empacotada e a alta viscosidade aliada à polaridade do cicloexanol evita a formação dos agregados e a sedimentação das partículas.

3.7.1.3 Escolha da concentração da suspensão

A massa de fase estacionária necessária para fazer o enchimento é proporcional ao volume da coluna. O volume da coluna é estimado através da equação do volume de um cilindro. Considerando que a densidade da sílica é de aproximadamente $1,0 \text{ g cm}^{-3}$, o valor de volume pode ser convertido para massa de fase estacionária, acrescentando 20% deste valor para garantir um excesso de fase estacionária no enchimento da coluna. Dessa maneira foram pesados aproximadamente 2,20 g da sílica e suspensos em 22 cm^3 de uma mistura 1:1 de tolueno e cicloexanol em um tubo de vidro pyrex. Esta suspensão foi colocada no aparelho de ultra-som durante alguns minutos até que a suspensão ficasse bastante homogênea.

3.7.1.4 Procedimento de enchimento

A suspensão acima foi transferida rapidamente para o reservatório de suspensão e foi forçada a percorrer a coluna por ação do solvente propulsor, que neste caso foi o metanol de grau cromatográfico, a uma determinada pressão (35 MPa). Na extremidade oposta a coluna de aço inox é colocado o filtro, o anel de alinhamento, o redutor e por último o terminal de latão. Fazendo o solvente percorrer todo o sistema, o material de enchimento ficou retido dentro da coluna através do filtro de $2 \mu\text{m}$, e foi acumulando até formar o leito da coluna. A pressurização do solvente foi feita como auxílio de uma bomba pneumática (Haskel Pressure Pump), cujo gás utilizado foi o nitrogênio. Após ter passado cerca de 80 cm^3 de solvente pela coluna que acabou de ser recheada, foi desligada a bomba e fechada a válvula de pressão da bomba. A coluna ficou conectada por mais alguns minutos no sistema de enchimento a fim de equilibrar a pressão. Ao final deste procedimento, a coluna foi desconectada do sistema cuidadosamente a fim de não

quebrar o leito de sílica formado nas paredes internas da coluna de aço inox. Foi colocado tubo de alinhamento, o filtro e finalmente o redutor de vazão seguido do terminal de latão. Ambos os lados da coluna foram fechados com os tampas de PEEK para evitar a evaporação do solvente dentro da coluna e evitar possíveis rachaduras no leito da nova coluna [11].

3.7.2 Condicionamento das Colunas Recheadas

Após enchimento, as várias colunas que foram recheadas tinham que ser acondicionadas com a fase móvel a fim de retirar o metanol utilizado durante o processo de enchimento e permitir um equilíbrio perfeito entre a fase móvel e a fase estacionária. O volume de fase móvel que deveria passar na coluna corresponde a 30 vezes o volume da coluna a uma baixa vazão, da ordem de $0,1 \text{ mL min}^{-1}$ *. Se a coluna tivesse sido usada e guardada por alguns dias, fazia-se o condicionamento por um tempo menor, aproximadamente 2 h [11].

3.7.3 Avaliação das colunas recheadas

3.7.3.1 Aparelhagem utilizada em CLAE

As análises foram realizadas utilizando o cromatógrafo a líquido Hewlett Packard modelo 1090 constituído de uma bomba de alta pressão recíproca do tipo pistão cabeça dupla, modelo DR5 com vazão de até 5 mL min^{-1} , detector espectrofotométrico por conjunto de fotodiodos, com cela de $8 \mu\text{L}$ de volume e injetor automático com volume de injeção variável de 1 até $25 \mu\text{L}$. A aquisição dos dados (ChemStation) era feita com o auxílio de um microcomputador (HP 79994A) que interfaciava ao cromatógrafo.

* Unidade recomendada para expressar a vazão de fase móvel em CLAE

3.7.3.2 Experimento da determinação da vazão ótima

Após a coluna ter sido condicionada, foi injetado naftaleno, em concentração de $0,19 \text{ mg cm}^{-3}$, em diferentes vazões de fase móvel, que neste caso foi hexano/diclorometano 90:10 v/v. Foram então calculados os parâmetros cromatográficos: altura do prato e a velocidade linear da fase móvel em vazões que variavam de $0,1$ até $1,5 \text{ mL min}^{-1}$. Com estes dados foi construída a curva de van Deemter para determinar a vazão ótima de análise. O ponto mínimo desta curva corresponde a velocidade linear ótima da fase móvel.

3.7.3.3 Escolha de uma mistura teste para os cálculos dos parâmetros cromatográficos

Para avaliar a eficiência de qualquer coluna, devem ser feito vários testes com misturas sintéticas, formadas por vários componentes. Dependendo de cada tipo de coluna, utilizam-se misturas testes específicas. A escolha das misturas testes utilizadas neste trabalho baseou-se nas propostas por vários fabricantes de colunas cromatográficas. A primeira amostra teste utilizada foi uma mistura de benzeno, naftaleno, antraceno, pireno e nitrobenzeno em concentrações de $1,560$; $0,191$; $0,010$; $0,110$ e $0,090 \text{ mg cm}^{-3}$ preparadas com a fase móvel, a qual era constituída por hexano e diclorometano em proporção de 90:10. No caso dos materiais sólidos, estes foram pesados em balança analítica e para os líquidos benzeno e nitrobenzeno, as quantidades requeridas foram coletadas com uma micropipeta calibrada e em ambos os casos foram dissolvidas e tiveram seus volumes completados com a fase móvel no balão volumétrico de 25 cm^3 .

A outra mistura sintética utilizada era constituída de anilina e N,N-dietilanilina. Antes de ser preparada esta mistura, foi necessário fazer a purificação das duas aminas aromáticas através da destilação sob pressão reduzida, de acordo com o procedimento recomendado [1]. A mistura teste era composta por $0,500 \mu\text{L}$ de cada uma das aminas e dissolvidas em 25 cm^3 de fase móvel. Neste caso a fase móvel, determinada experimentalmente, difere-se da anterior e era composta de diclorometano e metanol na proporção de 98 : 2 em volume.

3.7.3.4. Condições das análises cromatográficas

Todas as análises foram realizadas utilizando o detector de absorção de luz na região do ultravioleta, em comprimento de onda 254 nm, onde todos os componentes aromáticos absorvem. Com exceção do experimento onde foi determinada a vazão ótima de análise, todas as outras separações foram feitas utilizando uma vazão de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, volume de injeção de amostra ajustado para $10 \mu\text{L}$ e a temperatura de separação na coluna foi a ambiente. O tempo de retenção de um composto não retido de cada uma das colunas foi determinado injetando-se alíquotas de $25 \mu\text{L}$ diclorometano puro, o componente mais polar da fase móvel utilizada na mistura teste 1.

Todos os solventes utilizados, metanol, hexano, e diclorometano eram de grau cromatográfico e antes de serem utilizados no sistema de CLAE, estes eram filtrados em uma membrana de nylon de $0,22 \mu\text{m}$ (Millipore) e desgaseificada no ultra-som sob vácuo por aproximadamente 10 minutos. A proporção de cada uma das fases móveis utilizadas, foi escolhida experimentalmente de acordo com o grau de separação, que era obtido conforme eram feitas alterações na proporção de um dos componentes da fase móvel.

3.7.3.5 Cálculo dos Parâmetros Cromatográficos

Os cromatogramas foram registrados, utilizando uma alta velocidade de papel a fim de que as medidas da largura a meia altura (w_h), para o pico de interesse a serem usadas nos cálculos, fosse maior que 2 cm para reduzir os erros das medidas. Além dos valores de w_h (já convertidos em unidade de tempo pela divisão da velocidade do papel), tempo de retenção e tempo de retenção de um composto não retido, foram calculados os valores dos segmentos AC e CB para o cálculo de A_s , N , k e R_s [21].

4) Resultados e Discussão

4.1 Caracterizações

4.1.1 Análise Elementar de C, N e H.

A partir dos percentuais de C e N foi possível determinar a concentração do aminosilano na matriz de sílica após a reação com AEAPTS (sil-AEAPTS) e posteriormente verificar a reação com clorotrimetilsilano (sil-AEAPTS-CH₃). Os valores obtidos encontram-se na tabela 1:

Tabela 1: Percentuais de C, H e N obtidos através de análise elementar das sílicas modificadas, correspondentes relações C/N e densidade de grupos imobilizados por grama de sílica.

	% C	% H	% N	C/N	mmol g ⁻¹ de sílica
<i>sil-AEAPTS I</i>	3,38	0,70	1,36	2,49	0,49 ± 0,02
<i>sil-AEAPTS II</i>	3,25	0,87	1,29	2,52	0,46 ± 0,01
<i>sil-AEAPTS III</i>	3,21	0,82	1,30	2,47	0,46 ± 0,01
<i>sil-AEAPTS-III-CH₃</i>	3,55	1,03	1,07	-----	-----

Os resultados mostrados na tabela 1 comprovam a reprodutibilidade da síntese, uma vez que os materiais apresentaram teores de nitrogênio bastantes semelhantes. A relação C/N em todos os casos manteve-se praticamente constante com valores próximos a 2,5. Este corresponde ao valor calculado levando em consideração a estrutura química da molécula que foi imobilizada na sílica. Na sil-AEAPTS-III-CH₃, a porcentagem de carbono aumentou em relação as demais sílicas, evidenciando que a reação com clorotrimetilsilano ocorreu com os grupos silanóis remanescentes, conforme era esperado.

Os resultados obtidos pela técnica de absorção atômica, apresentaram valores ligeiramente maiores em relação ao método de titulação complexométrica com o EDTA. No último caso, a quantidade de íons Cu (II) adsorvidos sobre o material, foi calculada pela diferença entre a concentração inicial e a final na solução sobrenadante, após o processo de adsorção.

O número de mol de íons Cu (II) complexados foi relativamente maior na sílica modificada com AEAPTS e posteriormente com clorotrimetilsilano, sendo que se pode propor que a adsorção é mais favorável na sílica metilada.

4.1.3 Interpretação dos espectros de IV.

Os espectros na região do infravermelho das sílicas antes e após a reação com os agentes sililantes AEAPTS e clorotrimetilsilano estão na figura 10.

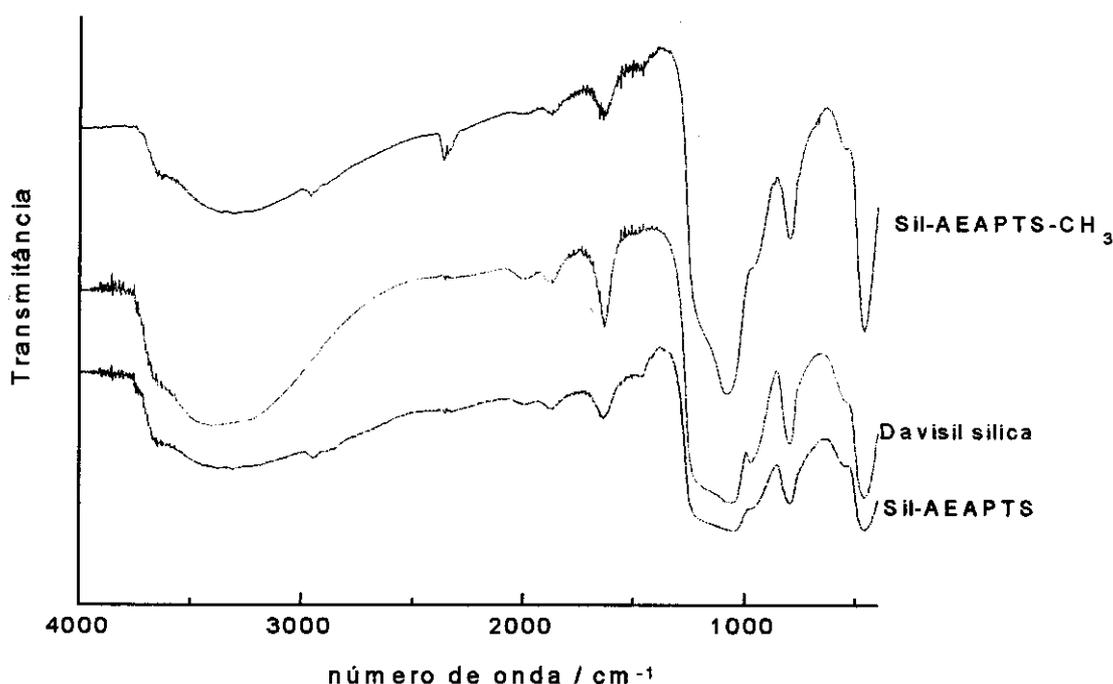


Fig.10: Espectros na região do infravermelho da Davisil sílica original e modificadas sil-AEAPTS e sil-AEAPTS-CH₃.

A banda na região de 3500 cm⁻¹, observada no espectro da sílica original, é uma banda larga, de forte intensidade e é atribuída ao estiramento dos grupos hidroxilas presentes na superfície da sílica, além das moléculas de água que se

encontram adsorvidas por ligações de hidrogênio. Outra banda na região de 1050 cm^{-1} é atribuída ao estiramento das ligações siloxano ($\nu\text{-Si-O-Si}$), que formam o esqueleto da sílica.

A banda na região de 1630 cm^{-1} , comum nos espectros, deve-se à presença das moléculas de água adsorvidas na sílica. Outra banda característica do estiramento da ligação $\equiv\text{Si-OH}$, dos silanóis livres que cobrem a superfície do óxido, foi observada na região de 965 cm^{-1} .

Verificou-se que, após a reação de recobrimento com o agente sililante AEAPTS, ocorreu o aparecimento de uma nova banda de pequena intensidade na região de 2940 cm^{-1} , característica do estiramento $\nu\text{-C-H}$, devido à presença da cadeia carbônica do agente sililante [48]

A banda na região de 965 cm^{-1} , característica dos grupos silanóis ($\nu\text{-Si-OH}$), mostrou uma pequena redução, devido à reação de imobilização ocorrer através da reação destes grupos com os grupos alcóxidos do agente sililante. Neste caso foi utilizado o reagente trifuncional, sendo que após a lavagem com água, os grupos alcóxidos que não reagiram com os silanóis da sílica, se hidrolizaram gerando novos grupos silanóis de acordo com a figura 11.

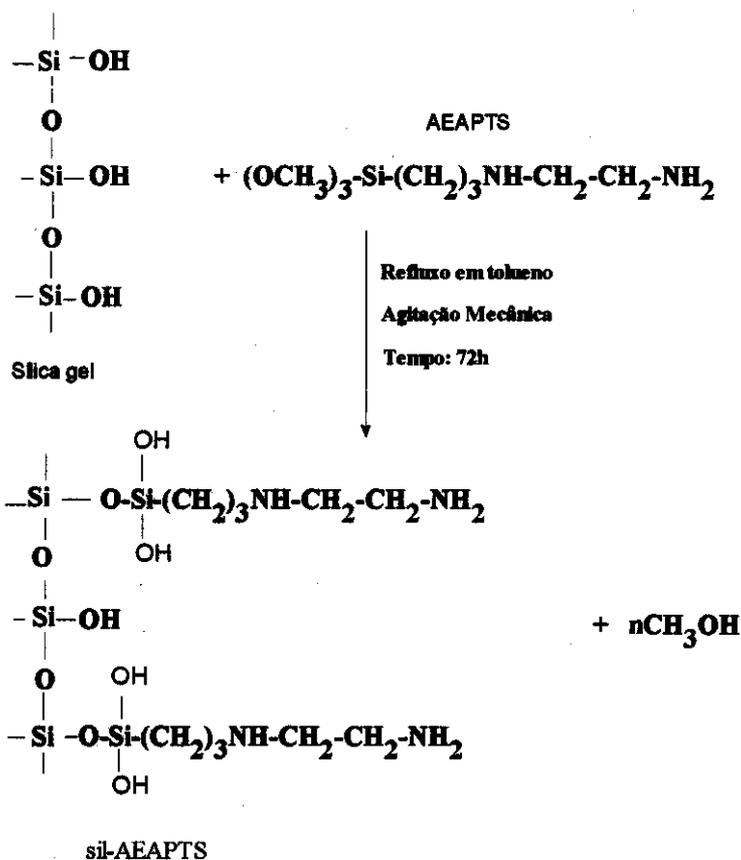


Fig. 11: Reação de sililação dos silanóis da superfície da sílica com AEAPTS

No espectro da sil-AEAPTS-CH₃, são observados os mesmos picos, porém a banda em 965 cm⁻¹ praticamente desapareceu e a banda em 2965 cm⁻¹ foi intensificada, evidenciando que a reação com clorotrimetilsilano ocorreu com sucesso, como está ilustrado na figura 12.

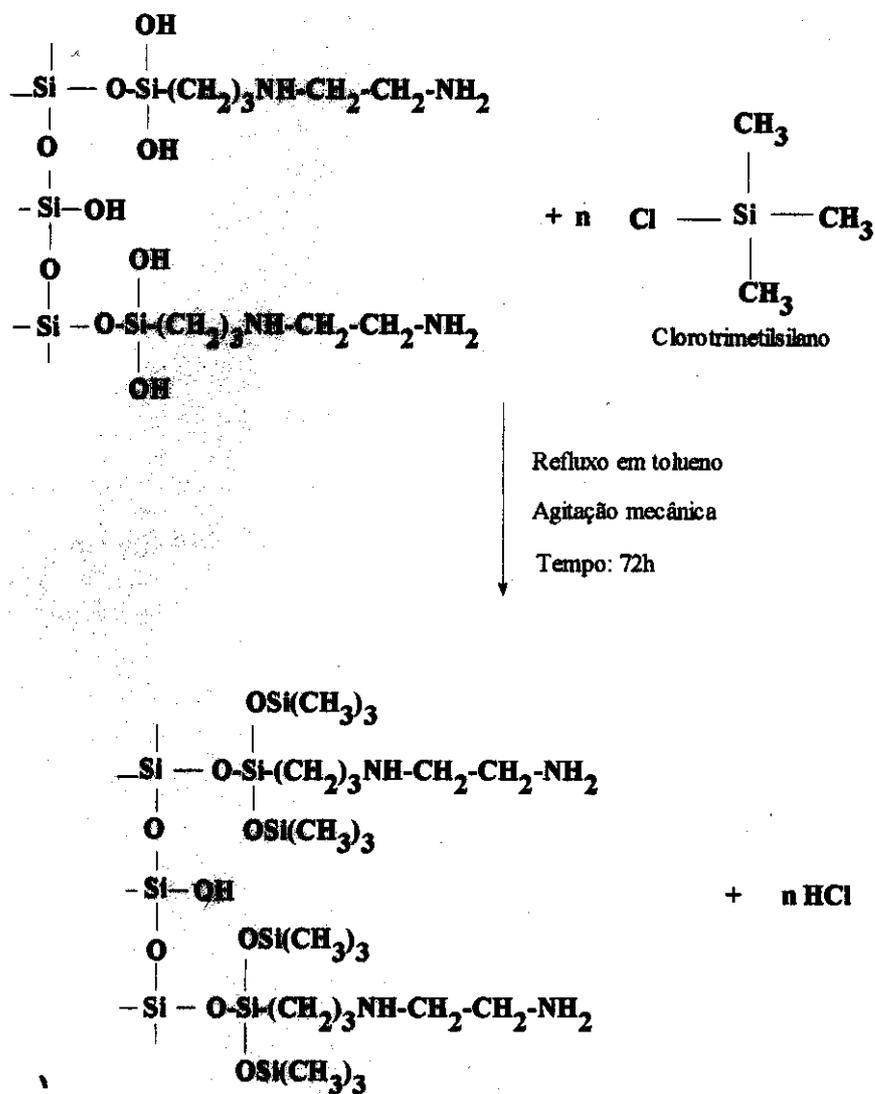


Fig.12: Reação de capeamento dos grupos silanóis residuais na sílica sil-AEAPTS.

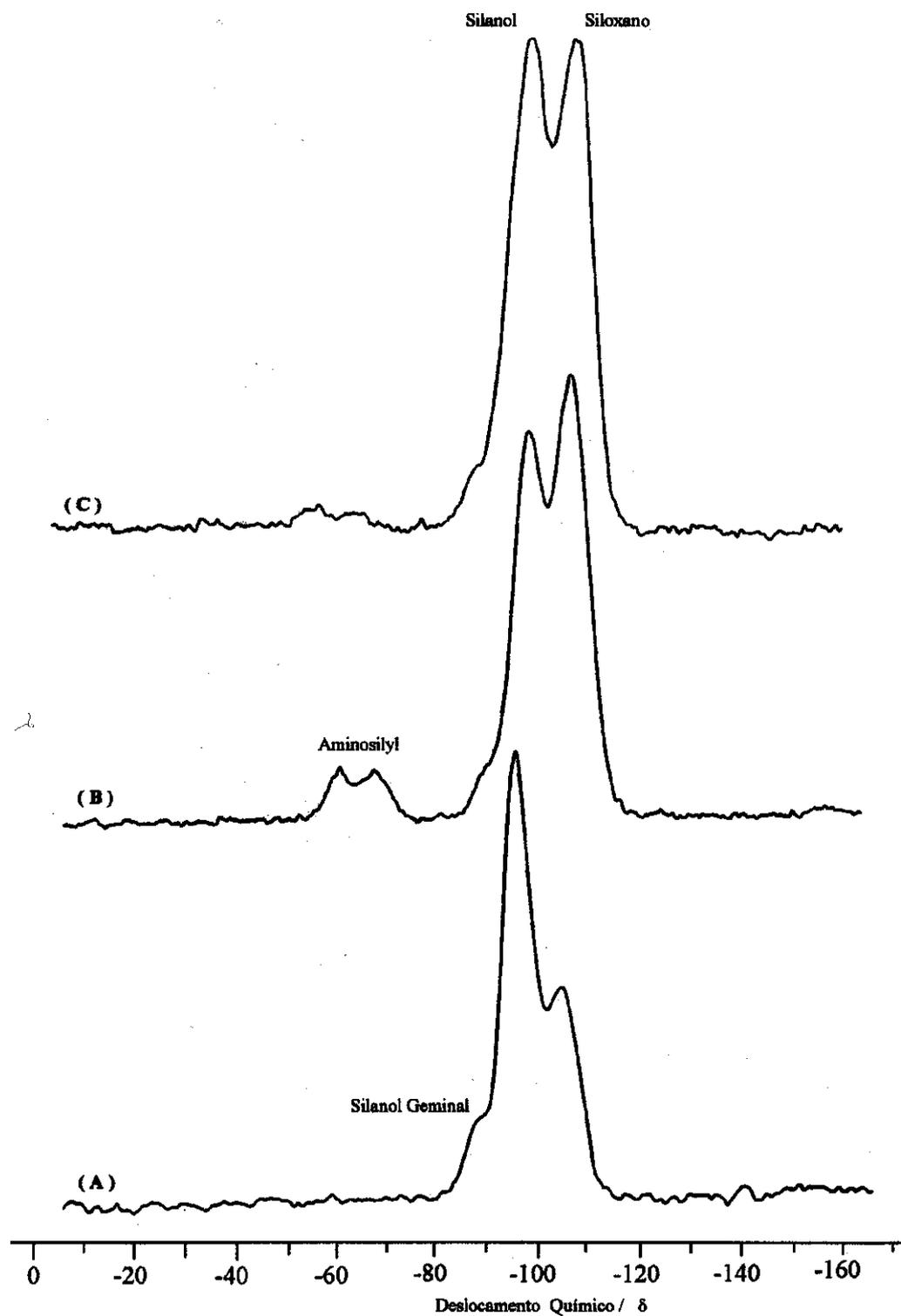
4.1.4 Interpretação dos espectros de ^{29}Si .

Fig. 13: Espectros de RMN de ^{29}Si da Davisil sílica (A), sil-AEAPTS (B) e sil-AEAPTS- Cu^{2+} (C).

Na figura 13, no espectro (A) de ^{29}Si da sílica original (Davisil) foram observados picos em -109 ppm, atribuído ao átomo de silício ligado a outros quatro grupos siloxanos $\text{Si}^*(\text{OSi}\equiv)_4$. Outro pico em -99 ppm que indica a presença de silício ligado a um grupo -OH e a outros três grupos siloxanos $\text{Si}^*(\text{OH})(\text{OSi}\equiv)_3$, atribuído ao silanol livre ou também pode ser um silanol do tipo ligado. Um pequeno ombro em -92 ppm é atribuído ao átomo de silício que se encontra ligado a dois grupos -OH e a outros dois grupos siloxanos $\text{Si}^*(\text{OH})_2(\text{OSi}\equiv)_2$, devido aos grupos silanóis do tipo geminal [49-51].

O espectro (B) da sílica modificada com AEAPTS apresenta esses mesmos picos além de mais dois outros picos que confirmam a imobilização do aminossilano na matriz da sílica. O pico em -64 ppm é atribuído ao silício ligado à cadeia orgânica que pode ser representado da seguinte forma: $\text{R-Si}^*(\text{OSi}\equiv)_3$, onde o grupo R representa a cadeia orgânica do aminossilano [52]. Outro pico em -56 ppm é atribuído aos átomos de silício do tipo: $\text{R-Si}^*(\text{OSi}\equiv)_2(\text{X})$, sendo X um grupo -OH produto da hidrólise de alcóxido ou até mesmo grupos do tipo metóxi ou etóxi que não sofreram a reação de hidrólise. Este tipo de diferenciação torna-se difícil quando tem em mãos apenas os espectros de RMN de silício, pois estes dois tipos de ligação apresentam deslocamentos químicos na mesma região [53].

Outro detalhe que deve ser ressaltado aqui que apesar da técnica de CP/MAS não ser quantitativa, considerando que os espectros foram feitos sempre nas mesmas condições, verificou-se um decréscimo na população de grupos silanóis após a reação com o agente sililante. O pico em -99 ppm indica a presença dos grupos silanóis remanescentes dos grupos alcóxidos do aminossilano. Para fins cromatográficos isto não é muito bom e uma maneira de contornar o problema seria fazer a reação de desativação destes grupos silanóis residuais com reagentes sililantes mais reativos, como por exemplo hexadimetildissilazano ou clorotrimetilsilano.

No espectro (C) de RMN de ^{29}Si da sílica AEAPTS- Cu^{2+} mostrado na figura 13, foram observados os mesmos picos e aqueles na região -56 e -64 ppm tiveram suas intensidades diminuídas, provavelmente devido ao tempo de acumulação do sinal, uma vez que os picos do silanol e do siloxano já se encontram saturados no espectro.

Comparando-se o espectro da sílica AEAPTS com o da sil-AEAPTS - Cu^{2+} , percebeu-se um aumento na intensidade do pico em -99 ppm referente aos grupos silanóis. Tal fenômeno ocorrido já foi estudado por outros pesquisadores que chegaram à conclusão de que quando se realiza a complexação dos íons Cu^{2+} , os grupos -NH rearranjam-se para acomodar o íon metálico e diminuem as interações por ligações de hidrogênio do grupo amina da cadeia orgânica com os silanóis residuais do suporte inorgânico.

Dessa maneira a população efetiva de grupos silanóis na superfície do óxido aumenta consideravelmente. Este aumento dos silanóis na superfície da sílica após a adsorção do Cu^{2+} , faz com que a coluna de CLAE recheada com este material aumente seu caráter polar, dificultando o estudo da influência do metal no processo envolvido na separação.

Dessa maneira, foi realizada a reação da sil-AEAPTS com clorotrimetilsilano a fim de desativar os grupos silanóis. O espectros de RMN de ^{29}Si da sil-AEAPTS- CH_3 , antes e após a reação de adsorção dos íons Cu^{2+} é mostrado na figura 14.

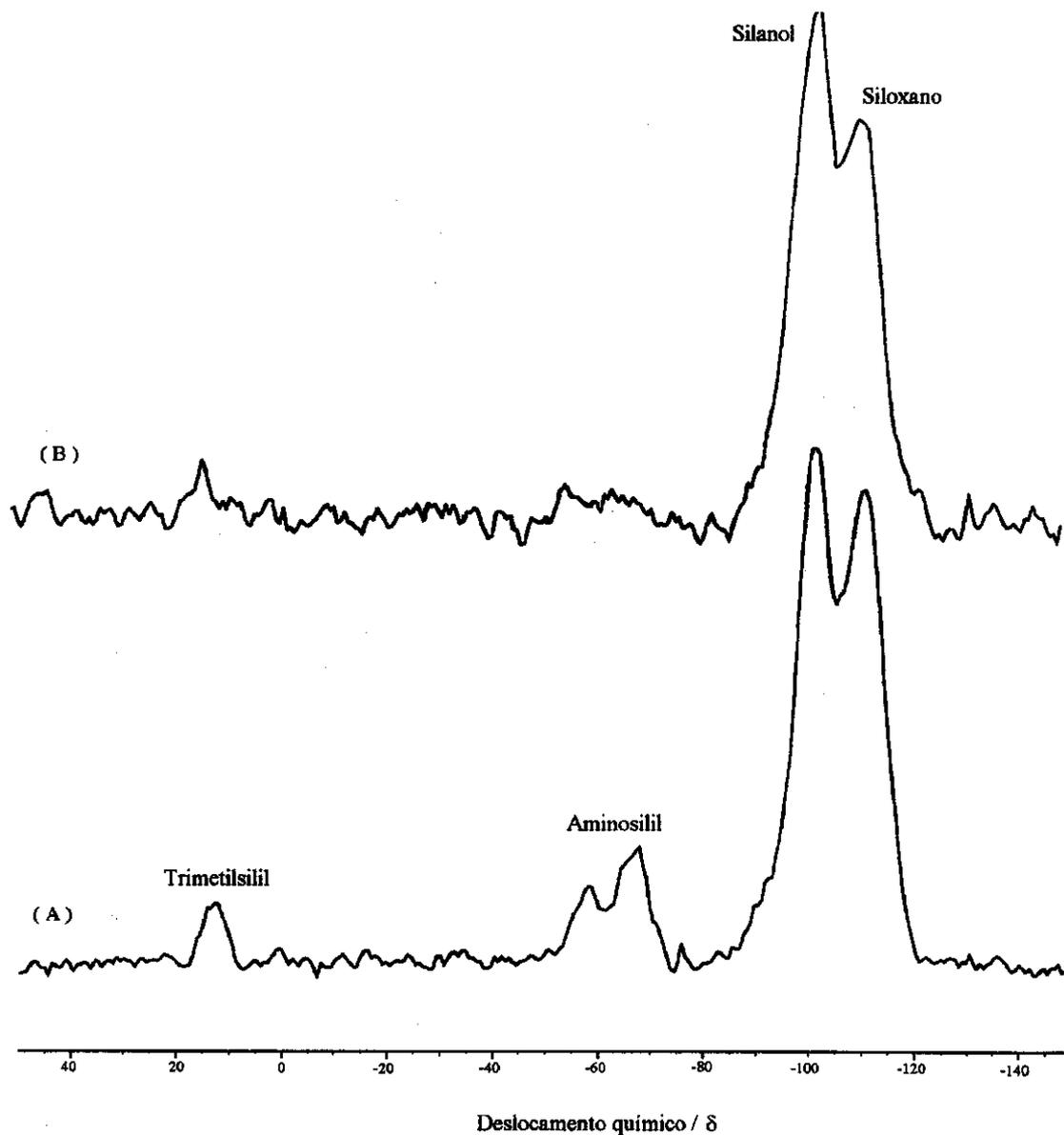
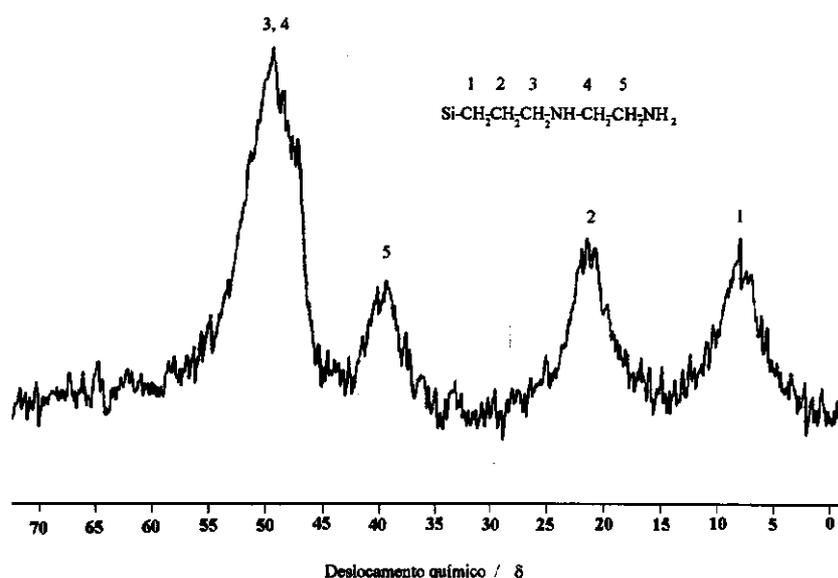


Fig. 14: Espectros de RMN de ^{29}Si da sílica metilada sil-AEAPTS- CH_3 antes (A) e após (B) a adsorção de íons cobre.

Um novo pico na região de + 13 ppm é observado no espectro (A) da sil-AEAPTS- CH_3 devido à presença de átomos de silício ligados a três grupos metila ($-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), produto da reação do $\text{Cl-Si}(\text{CH}_3)_3$ com os silanóis [51]. A presença do pico na região de - 99 ppm, indica que a reação de desativação dos silanóis não foi totalmente efetiva. Isto pode ser comprovado, analisando o espectro (B), onde se observou um ligeiro aumento na população dos silanóis, após a adsorção dos íons Cu^{2+} .

4.1.5 Interpretação do espectro de RMN de ^{13}C Fig. 15 : Espectro de RMN de ^{13}C da sil-AEAPTS.

No espectro de ^{13}C da figura 15 da sil-AEAPTS, pode-se descartar a possibilidade de que existam grupos metoxi, pois *não foi* observado o pico correspondente ao grupo metileno ligado ao oxigênio ($\text{O-C}^*\text{H}_3$) que deveria ser observado por volta de +60 ppm [54]. Os quatro picos devem-se à presença do agente sililante na sílica, que já havia sido confirmado pelas outras análises realizadas.

O pico em + 49 ppm é devido aos carbonos equivalentes 3 e 4 como indica a estrutura acima. Os picos em + 38, + 20 e + 17 ppm são atribuídos aos carbonos 5, 2 e 1 respectivamente. Isso indica que durante o processo de recobrimento não ocorreu nenhuma modificação na cadeia orgânica do agente sililante, conforme era esperado.

4.1.6 Termogravimetria

As análises das curvas termogravimétricas da sílicas modificadas são indispensáveis na avaliação da estabilidade térmica do material frente a um aquecimento contínuo e controlado [55]. Estas curvas encontram-se na figura 16.

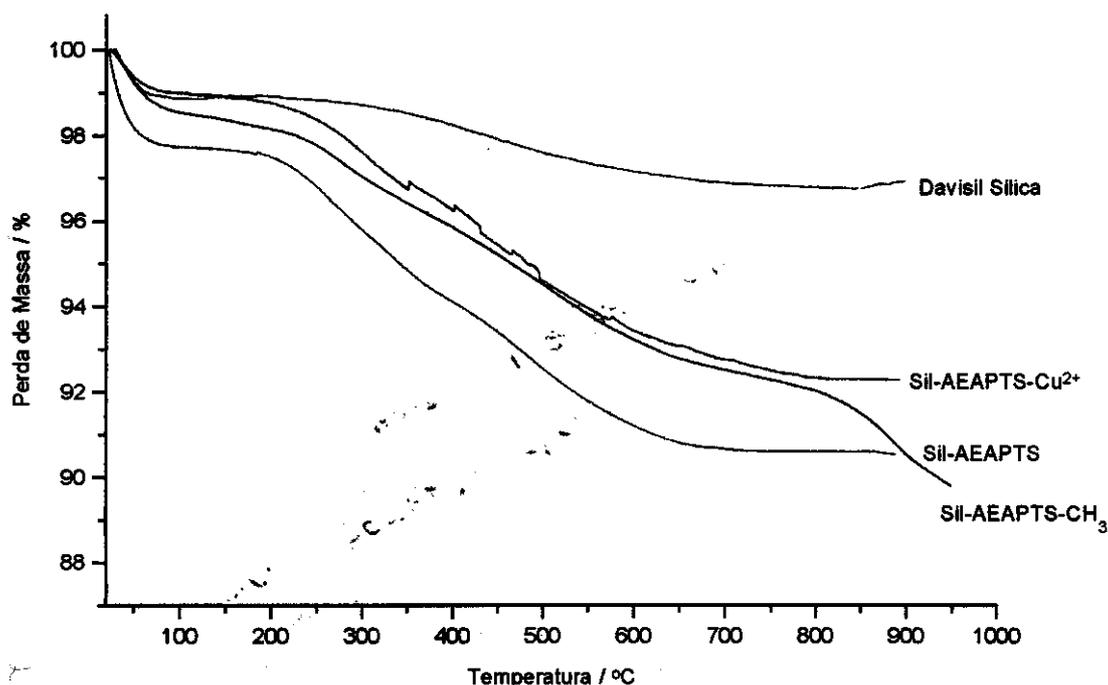


Fig. 16: Curvas termogravimétricas das sílicas: Davisil sílica, sil-AEAPTS, sil-AEAPTS-Cu²⁺ e sil-AEAPTS-CH₃.

Tabela 2: Dados das análises das curvas termogravimétricas das sílicas

	Perda de Massa (%)	Faixa de Temperatura / °C
Davisil sílica	1,1	25 - 150
	2,1	150 - 800
sil-AEAPTS-Cu ²⁺	1,1	25 - 150
	6,6	150 - 800
sil-AEAPTS	2,3	25 - 150
	7,1	150 - 800
sil-AEAPTS-CH ₃	1,6	25 - 150
	6,9	150 - 800
	1,6	800 - 940

No intervalo da temperatura ambiente até 150 °C ocorre a saída das moléculas de água, que se encontram adsorvidas sobre o material por interações do tipo ligação de hidrogênio. A quantidade de água adsorvida aumenta

consideravelmente nas sílicas quimicamente modificadas com o agente sililante (AEAPTS). Este aumento pode estar relacionado às interações das moléculas de água com os grupos amina da cadeia orgânica do agente sililante, imobilizado na superfície da sílica ou com os grupos $\equiv\text{Si-OH}$ remanescentes do agente sililante.

A curva termogravimétrica da sílica original apresentou uma perda de massa de 2,1 %, devido à condensação dos grupos silanóis, liberando moléculas de água e formando novas ligações $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$. Com estes dados foi possível fazer uma estimativa da concentração dos grupos silanóis existentes na superfície do óxido, levando em consideração que a cada mol de água perdido nesta faixa de temperatura, corresponde a reação de dois mol de silanóis da superfície. Dessa maneira, o valor encontrado foi de 0,58 mmol g⁻¹ de sílica, cujo valor está próximo daquele obtido experimentalmente através da titulação potenciométrica, que foi de 0,50 mmol g⁻¹. De acordo com a literatura [5], este método pode superestimar a concentração dos grupos silanóis, uma vez que, pode haver reação com os silanóis internos, os quais jamais estariam disponíveis para a reação com os agentes sililantes.

A curva termogravimétrica da sil-AEAPTS apresentou uma perda de massa de 7,1 %, após a perda de água fisicamente adsorvida, devido à decomposição da cadeia orgânica do agente sililante imobilizado, juntamente com a condensação dos grupos silanóis remanescentes. Na sequência a sil-AEAPTS-Cu²⁺ apresentou na mesma região de temperatura, uma perda de massa menor em relação a sil-AEAPTS precursora, devido à presença dos íons Cu (II) complexados.

A sil-AEAPTS-CH₃, foi o único material que não apresentou um patamar definido na região de 800 °C, mostrando uma perda de massa de 8,5 % no intervalo de 150 a 940 °C. Este valor é relativamente maior quando comparado com a sílica modificada com AEAPTS, indicando mais uma vez que o capeamento dos grupos silanóis ocorreu com sucesso, resultando em um material com um maior teor de carbono.

4.1.7 Medidas de área superficial e volume específico dos poros.

As áreas superficiais dos materiais foram determinadas através do método de BET e os resultados obtido são apresentados na tabela 3.

Tabela 3: Valores de área superficial e volume específico de poros para as sílicas modificadas com os respectivos agentes sililantes.

	S (m ² g ⁻¹)	Vp (cm ³ g ⁻¹)
Davisil Sílica	372 ± 3	1,23
sil-AEAPTS	252 ± 2	1,14
sil-AEAPTS-Cu ²⁺	249 ± 3	1,12
sil-AEAPTS-CH ₃	189 ± 2	0,92

Os resultados indicam que ocorreu uma diminuição na área superficial específica à medida que as sílicas foram modificadas com os agentes sililantes. Esta redução pode ser explicada pela ocorrência da imobilização dos agentes sililantes nas paredes dos poros da sílica, onde se encontravam os grupos silanóis. Dessa maneira, há um impedimento no acesso das moléculas de nitrogênio durante as medidas.

O volume dos poros dos respectivos materiais, calculados pela intrusão de mercúrio, também diminuiu proporcionalmente à medida que foi modificando a superfície da sílica, cuja explicação é a mesma que a diminuição da área superficial.

4.1.8 Espectroscopia na região do UV-Vis.

O espectro de absorção eletrônico na região do UV-Vis é bastante sensível à substituição dos ligantes e à polaridade do solvente.

As transições eletrônicas entre os orbitais $t_{2g} \rightarrow e_g$ geralmente resultam em absorções, também denominadas como bandas de transição $d - d$. As absorções na região do visível envolvem muitas vezes bandas de transferência de carga *ligante-metal* [56].

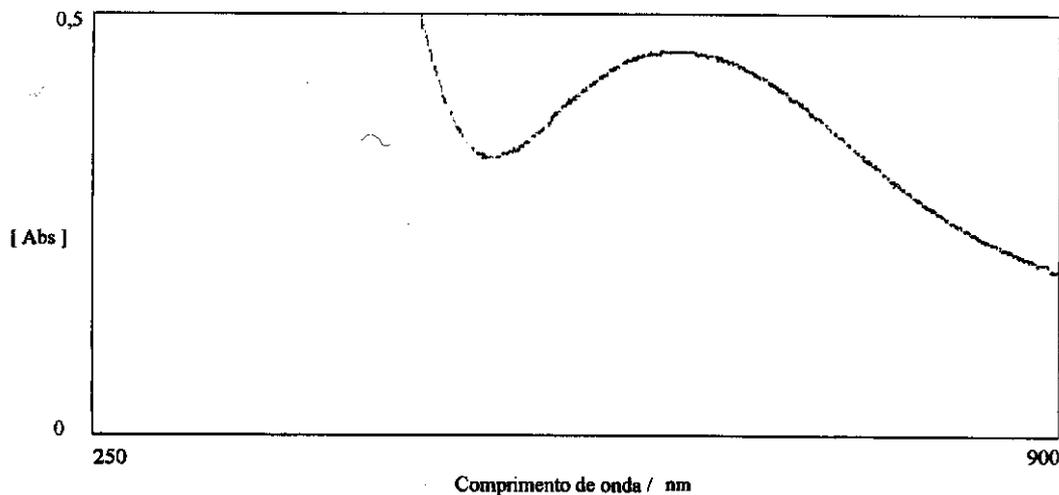


Fig 17: Espectro eletrônico da suspensão de sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ em tetracloreto de carbono no intervalo de 250 a 900 nm.

No espectro eletrônico na região do UV-Vis da sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺, mostrado na figura 17, foi detectada uma banda larga com um máximo em 670 nm, o que já era esperado, devido à forte coloração azul do sólido quando suspenso no solvente CCl₄.

O complexo formado pelo íon Cu(II), apresenta configuração eletrônica d^9 . O complexo formado na superfície da sílica tem uma geometria *octaédrica distorcida*, sendo que os átomos de nitrogênio do agente sililante AEAPTS ocupam 4 sítios e os outros dois sítios de coordenação estão ocupados por moléculas de solvente, que podem ser água e ou metanol.

Esta distorção tetragonal corresponde a um distanciamento dos ligantes ao longo do eixo z e a uma aproximação nos eixos x e y, fazendo com que haja uma diminuição do caráter antiligante do orbital $eg (dz^2)$, como ilustrado na figura 18 [57,58].

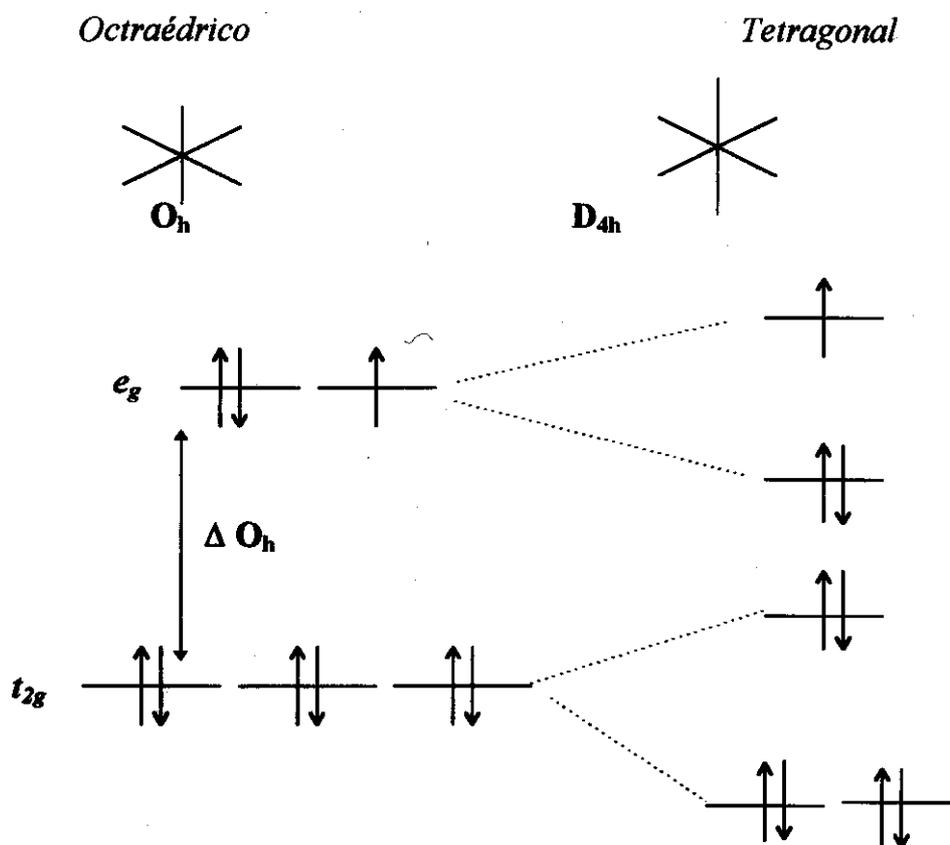


Fig. 18: Diagrama de energia dos orbitais, mostrando como a distorção tetragonal, aproximação ao longo dos eixos x e y e afastamento na direção do eixo z, afeta os níveis de energia dos orbitais d para um complexo de configuração eletrônica d^9 [57].

O espectro eletrônico na região de 250 a 900 nm, mostrado na figura 19, foi obtido após a adição de 5 μ L de anilina sobre a suspensão da sílica sil-AEAPTS- CH_3 - Cu^{2+} em tetracloreto de carbono.

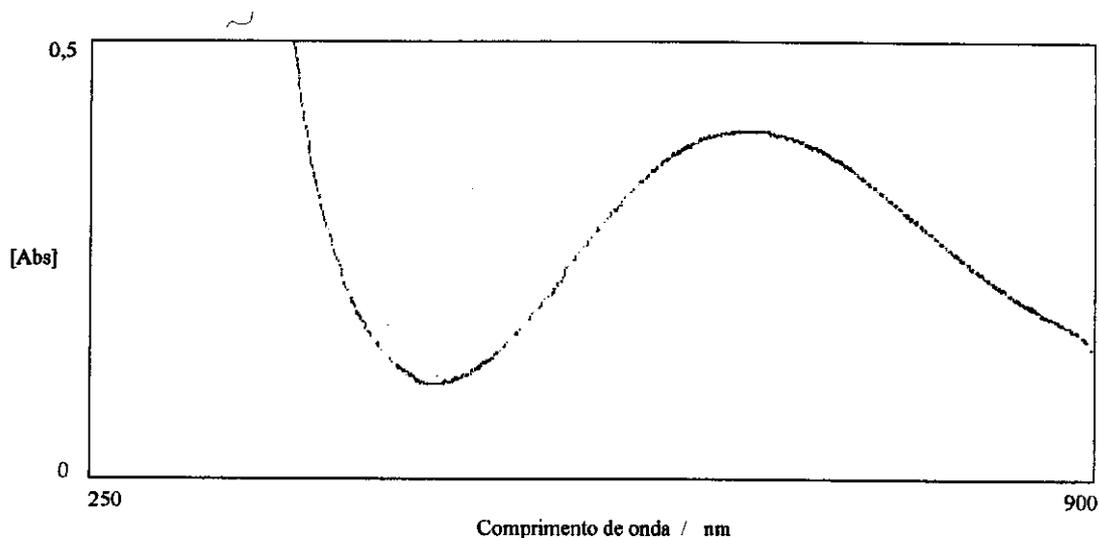


Fig.19: Espectro eletrônico da suspensão de sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ em tetracloreto de carbono no intervalo de 250 a 900 nm, após a adição de 5 μL de anilina.

Comparando-se com o espectro obtido na figura 17, a banda deslocou para um comprimento de onda menor ($\lambda_{\text{máx.}} = 638 \text{ nm}$). Esta banda é característica de uma transição *d-d* e dessa maneira a adição da anilina promoveu uma troca de ligantes ao redor da esfera de coordenação do Cu (II). Os ligantes substituídos foram os menos básicos, possivelmente as moléculas de solvente. Com a troca de ligantes mais básicos, a energia desta transição eletrônica aumenta, deslocando a respectiva banda para um comprimento de onda menor.

Foi possível visualizar o acompanhamento deste fenômeno, uma vez que o material mudou sua cor de azul para verde intenso, após a adição da anilina.

Dessa forma a previsão concorda com os dados obtidos experimentalmente, comprovando a hipótese de que pelo menos dois sítios de coordenação estão ocupados com as moléculas do solvente, enquanto que outros quatro sítios estão coordenados aos átomos de nitrogênio do agente sililante AEAPTS, conforme discutido anteriormente.

4.1.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

A técnica de MEV permitiu verificar a morfologia das partículas da sílica gel Davisil e também estimar o tamanho médio das partículas antes e após todo o processo de modificação química da superfície. As imagens foram obtidas a partir da detecção de elétrons secundários, os quais foram produzidos pelas espécies analisadas, sob a radiação da fonte termoiônica. Na figura 20 está apresentada a micrografia das partículas da sílica original.

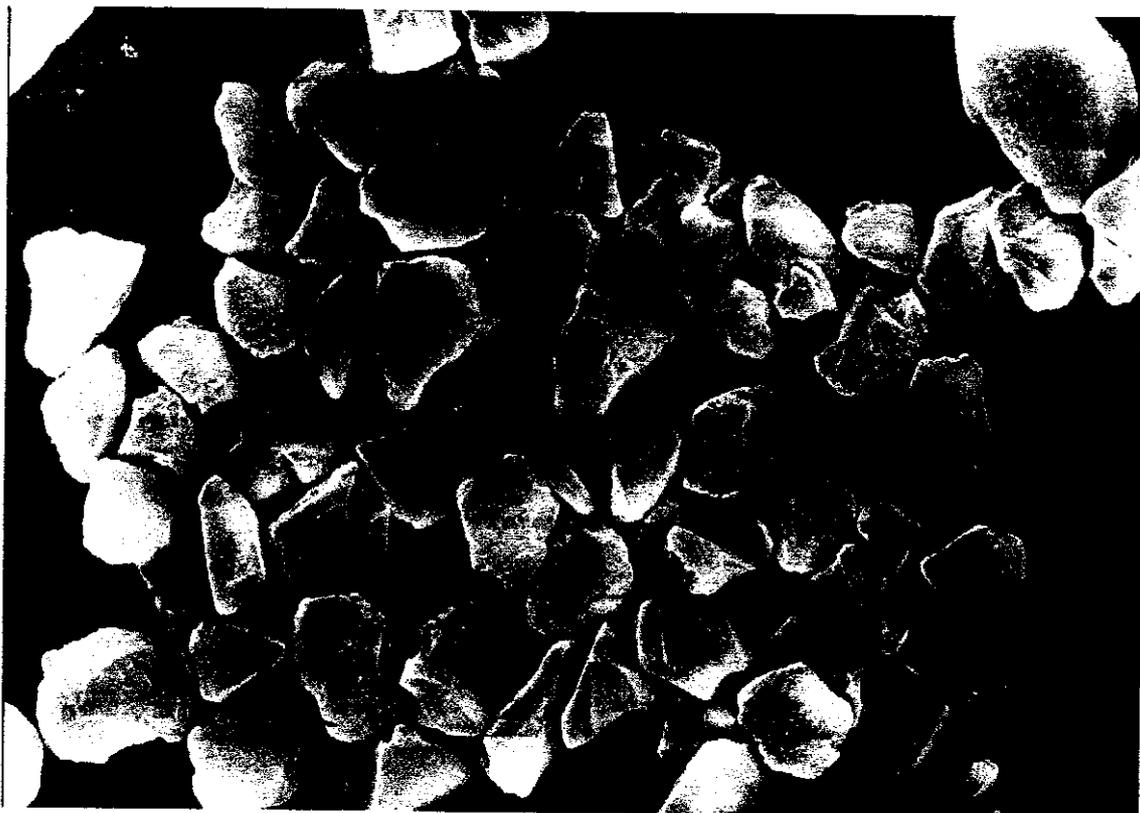


Fig. 20: Micrografia das partículas da Davisil sílica, com aumento de 10.000 vezes, onde 1 cm é equivalente à 10 μm .

As partículas apresentam-se bem definidas com formato irregular e diferentes tamanhos. O diâmetro médio das partículas foi estimado, obtendo-se um valor médio de $11,3 \pm 0,3 \mu\text{m}$ (para uma amostra de 27 partículas da foto), que está concordante com a especificação fornecida pelo fabricante desta sílica.

A figura 21, mostra as partículas da sílica sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺.



Figura 21: Micrografia das partículas de sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ em um aumento de 10.000 vezes.

Verificou-se que esta sílica apresenta algumas partículas muito menores do que era suposto encontrar na faixa selecionada. Tal comportamento não era esperado, uma vez que cuidados experimentais foram tomados para não danificar as partículas da sílica durante as várias etapas da modificação química, empregando sempre a agitação mecânica. Porém, através da micrografia da figura 21, ficou evidenciado que as partículas quebraram depois de realizadas as três etapas de modificação, que consistiram em (1) reação de sililação com AEAPTS, (2) reação de capeamento dos silanóis com clorotrimetilsilano e (3) adsorção dos íons Cu²⁺. Entretanto a presença destas partículas menores, que estão em um número bem menor em relação ao conjunto total, não afetou o desempenho cromatográfico das colunas recheadas com este material.

4.2 Testes cromatográficos

4.2.1 Determinação da vazão ótima

Para cada uma das colunas recheadas foi determinada a vazão ótima, obtendo-se um valor aproximado de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ em todos os casos. Porém, o tempo das análises cromatográficas nesta vazão era muito grande, então decidiu-se padronizar de tal maneira que todas as análises fossem feitas na vazão de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, sem haver grandes perdas na eficiência das colunas recheadas.

4.2.2 Avaliação das colunas recheadas

4.2.2.1 Separação da mistura teste 1 em sil-AEAPTS e sil-AEAPTS-Cu²⁺

Os cromatogramas, utilizados nos cálculos dos parâmetros cromatográficos, foram obtidos utilizando uma velocidade de papel alta para que as medidas da largura na meia altura (w_h) para cada um dos picos de interesse fosse da ordem de 2,0 cm, a fim de se minimizar grandes erros com as medidas feitas. Além dos valores de w_h , foram determinados também o tempo de retenção (t_R), o tempo de um composto não retido (t_M) e os valores dos segmentos AC e CB à 10 % da altura do pico, necessários para o cálculo da assimetria de pico (A_s). A eficiência ou número de pratos (N), é a medida do número de etapas de equilíbrio do soluto entre a fase estacionária e a fase móvel calculada por meio do t_R e w_h . O termo k , denominado fator de retenção, é uma razão entre o t_M e t'_R . A resolução (R_s) é uma medida quantitativa do grau de separação entre dois picos adjacentes. O fator de separação (α), entre dois picos adjacentes, é calculado pela razão entre os fatores de retenção do soluto mais retido (k_2) e do soluto menos retido (k_1) [21].

Com a finalidade de verificar a potencialidade de separação da coluna sil-AEAPTS-Cu²⁺, foi utilizada a mistura teste 1, que contém benzeno, naftaleno,

antraceno, pireno e nitrobenzeno. A figura 22 mostra um dos cromatogramas obtidos:

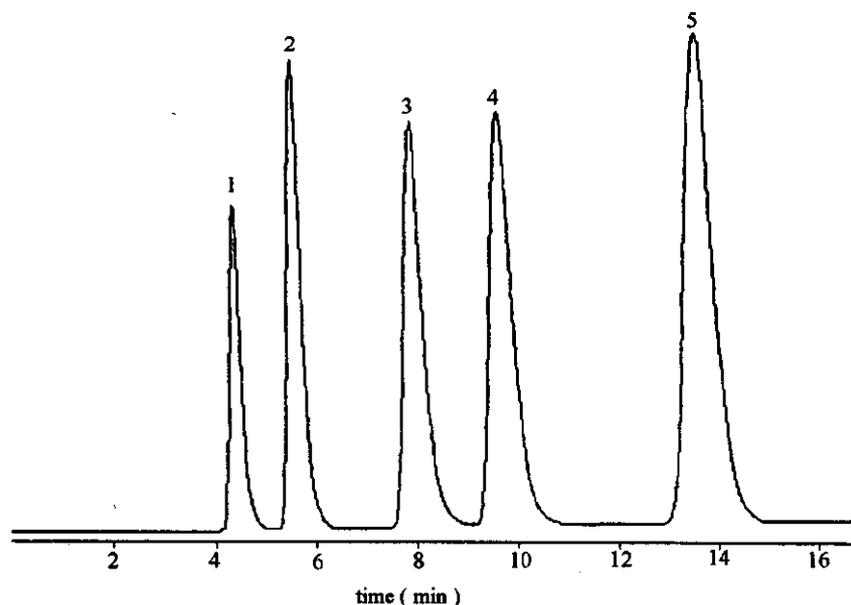


Fig. 22: Cromatograma da mistura 1, benzeno (1), naftaleno (2), antraceno (3), pireno(4) e nitrobenzeno (5) obtido na coluna recheada com sil-AEAPTS-Cu²⁺. Condições cromatográficas: volume de injeção de 10 μ L, FM hexano:diclorometano 90:10 v/v, vazão = 0,4 mL min⁻¹, detecção UV em 254 nm e t_M de 3,91 min.

Tabela 4: Parâmetros cromatográficos calculados a partir do cromatograma da figura 22 ($t_M = 3,91$ min).

soluto	k	N/m	As	α	Rs
benzeno	0,11	12.090	1,5	4,8	3,8
naftaleno	0,40	13.220	1,6	2,6	6,7
antraceno	0,99	15.500	1,9	1,5	3,5
pireno	1,4	14.420	1,7	1,6	6,4
nitrobenzeno	2,4	18.390	2,0	----	----

Através dos resultados obtidos, pode-se afirmar que a coluna possui uma boa eficiência, porque os valores de número de pratos variando de 12.000 a 18.000, estão de acordo com os valores considerados satisfatórios pela literatura. Para uma coluna normal do tipo amina ($-\text{NH}_2$) com tamanho de partícula de 10 μm , os valores aceitáveis devem estar na faixa de 12.000-20.000 pratos por metro [59]. Os valores de R_s podem ser considerados bons e apenas os valores de assimetria estão relativamente altos. A literatura, que normalmente se refere ao nitrobenzeno como o composto para o cálculo de N e A_s , afirma que valores de assimetria até 1,6 são aceitáveis [59].

Como nesta pesquisa desenvolveu-se a própria coluna, o experimento realizado a seguir teve como propósito comparar a coluna obtida com uma coluna disponível comercialmente, que apresentasse a fase do tipo amina imobilizada quimicamente. Não foi possível fazer o estudo comparativo com uma coluna amina com íons cobre adsorvidos quimicamente, já que estas não são disponíveis comercialmente, mas já foram sintetizadas por alguns pesquisadores [44]. A coluna comercial disponível para realizar a mesma separação cromatográfica foi a coluna Bondesil- NH_2 de tamanho de partícula 5 μm , de dimensões de 4.60 mm x 250 mm, fornecida pela Varian. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 5, empregando as mesmas condições experimentais do cromatograma da figura 22.

Tabela 5: Parâmetros cromatográficos para a mistura teste 1 com a coluna Bondesil- NH_2 ($t_M = 5,24$ min).

soluto	k	N/m	A_s	α	R_s
benzeno	0,13	56.920	1,1	2,2	6,1
naftaleno	0,29	64.440	1,3	1,9	8,9
antraceno	0,56	65.190	1,5	1,4	5,6
pireno	0,76	62.560	1,3	1,7	12
nitrobenzeno	1,3	64.440	1,4	----	-----

A coluna comercial apresentou uma eficiência muito maior quando comparada com a coluna fabricada em nosso laboratório. Talvez esta não seja uma comparação muito recomendada, já que a sílica utilizada por nós apresentava partículas de aproximadamente 10 μm e a coluna comercial, segundo o fabricante, foi recheada com fase estacionária com tamanho de partícula de 5 μm .

Vários estudos já demonstraram que o tamanho da partícula do recheio afeta consideravelmente a eficiência da coluna, de modo que quanto menor o diâmetro da partícula maior a eficiência, porque maiores as etapas de equilíbrio na coluna e uma menor resistência à velocidade de transferência de massa [59]. Desta maneira já era esperado uma coluna com uma eficiência mais baixa em relação à coluna comercial.

Os valores de assimetria de pico na coluna comercial são bastante otimizados em relação aos obtidos com a nossa coluna. O alto valor de assimetria na nossa coluna pode ser atribuído à presença do ion Cu (II), que tornam os grupos silanóis mais ácidos, aumentando a assimetria. Além disso, o enchimento da coluna é bastante difícil porque depende de inúmeras variáveis, que se não forem bem controladas, resultam em colunas com baixa eficiência e alta assimetria. Na verdade, o enchimento de colunas é considerado mais uma arte que uma ciência.

A coluna obtida por nós não deveria ser descartada, pois apesar de apresentar assimetria acima da desejada, tem uma boa eficiência. Convém ressaltar aqui que vários outros enchimentos foram realizados e esta coluna foi a que possibilitou a obtenção de melhores valores do número de pratos por metro e os mais baixos valores de assimetria.

Para verificar a influência do íon cobre adsorvido na fase estacionária, foi realizado um enchimento com a sil-AEAPTS. A separação foi realizada com esta coluna com a mistura teste 1 e as condições cromatográficas foram as mesmas empregadas na coluna sil-AEAPTS-Cu²⁺. O cromatograma de separação está na figura 23.

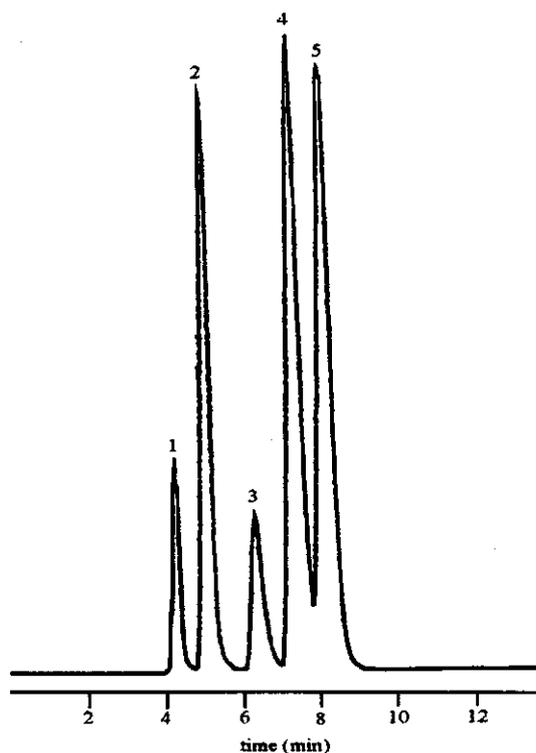


Fig. 23: Cromatograma da mistura 1, benzeno (1), naftaleno (2), antraceno (3), pireno (4) e nitrobenzeno (5) obtido na coluna recheada com sil-AEAPTS. Condições cromatográficas idênticas às da figura 22 ($t_M = 3,20$ min).

Verificou-se que a ordem de eluição permaneceu a mesma sendo que o composto menos retido foi o benzeno (1) e o mais retido foi o nitrobenzeno (5). Foram calculados os parâmetros e os resultados se encontram na tabela 6.

Tabela 6: Parâmetros cromatográficos para a mistura teste 1 com a coluna sil-AEAPTS sem o íon Cu^{2+} ($t_M = 3,20$ min).

soluto	k	N/m	As	α	Rs
benzeno	0,35	19080	1,4	1,7	3,1
naftaleno	0,59	15030	1,5	1,7	3,7
antraceno	1,0	9650	2,1	1,4	2,3
pireno	1,4	12970	2,0	1,2	1,9
nitrobenzeno	1,6	11740	1,4	----	----

Comparando os resultados da tabela 6 com os obtidos com a coluna contendo o íon Cu^{2+} (vide tabela 4), verificou que se obtiveram neste caso, valores menores de R_s , principalmente para o par pireno e nitrobenzeno. A separação entre os picos está menor, devido a uma mudança na polaridade da fase estacionária. O íon Cu^{2+} adsorvido na sílica promove o aparecimento de novos sítios ácidos de Lewis e assim aumenta o número de interações com os solutos e faz com que o número de etapas de equilíbrio entre o soluto e a fase estacionária aumente, e conseqüentemente, com que se obtenha uma melhor resolução destes picos.

A segunda hipótese a ser sugerida está relacionada à presença do íon cobre complexado na superfície da sílica, o qual provoca um aumento na população de grupos silanóis, aumentando assim o carácter polar da fase estacionária. Tal fato pode ser evidenciado pela análise de RMN de ^{29}Si . A interação do benzeno com a fase estacionária ocorre via interações fracas do tipo van der Waals e no caso onde se tem o íon, é possível que haja uma pequena interação eletrônica dos elétrons π com o íon metálico. Para o composto mais retido, tem-se a presença do grupo nitro, bastante polar, capaz de interagir com a fase estacionária por ligações de hidrogênio. Espera-se que a interação por elétrons π seja pouco provável, já que os grupos nitro retiram os elétrons do anel aromático por provocar efeito indutivo. Dessa forma obteve-se um valor de N/m maior para o benzeno na coluna sem o íon Cu (II), enquanto na coluna com o cobre, o maior valor de N/m foi obtido para o nitrobenzeno. Estes dados experimentais estão mais de acordo com a segunda proposição. A análise dos dados obtidos com a segunda mistura teste nos auxiliará na elucidação do fenômeno, que ocorre quando se tem o íon cobre complexado.

4.2.2.2 Separação da mistura teste 2

Com o intuito de verificar a influência do metal nas separações cromatográficas foi escolhida uma mistura teste básica composta por duas aminas aromáticas: N, N-dietilanilina e anilina. A primeira é menos polar devido aos grupos etil ligados ao nitrogênio, o que dificulta interações por ligações de hidrogênio. Os

cromatogramas de separação destes dois compostos nas colunas recheadas com sil-AEAPTS e sil-AEAPTS-Cu²⁺ estão mostrados na figura 24.

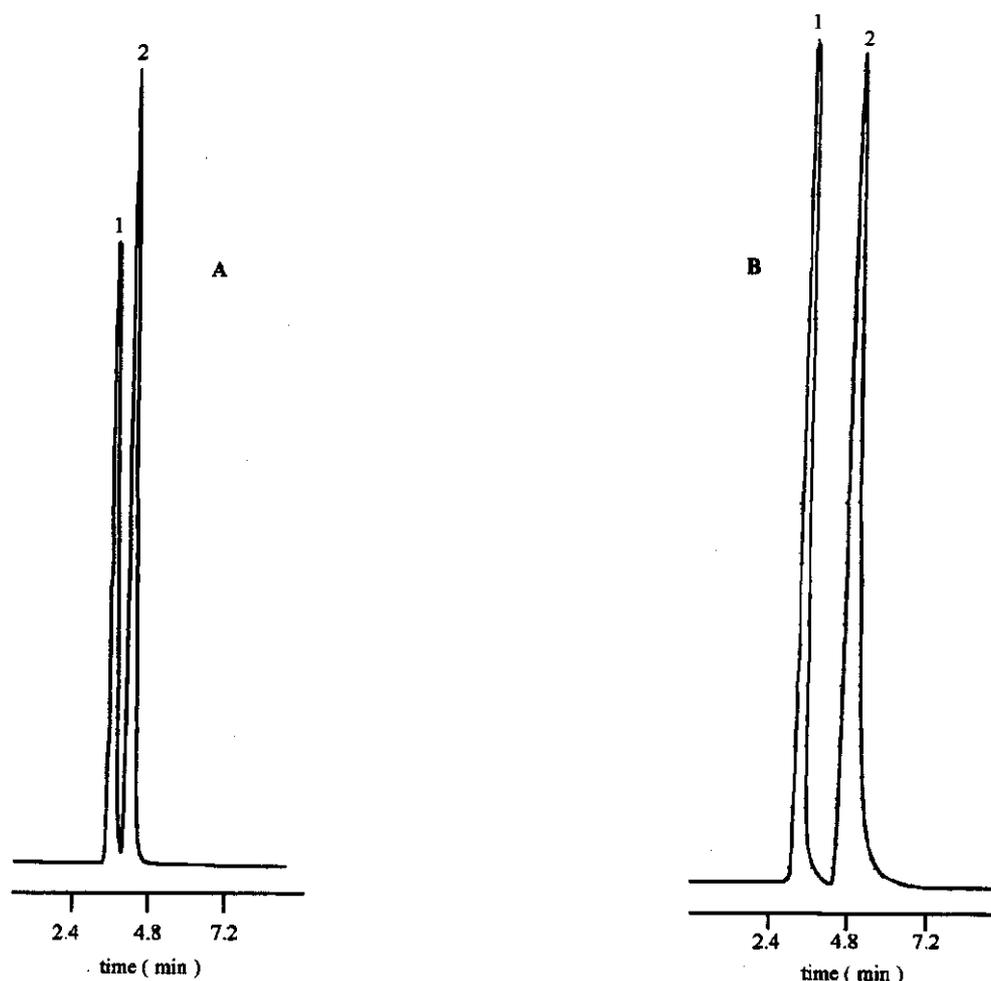


Fig. 24: Cromatogramas da N,N-dietilanilina (1) e anilina (2) nas colunas recheadas com a sil-AEAPTS (A) ($t_M = 3,10$ min), e sil-AEAPTS-Cu²⁺ (B) ($t_M = 2,80$ min). Condições cromatográficas: volume de injeção de 10 μ L, FM diclorometano/metanol (98:2 v/v), vazão de 0,4 mL min⁻¹, detecção UV em 254 nm.

Como verificou-se nos cromatogramas, o cobre desempenha um papel importante neste tipo de separação envolvendo amostras básicas. A ordem de eluição dos compostos em ambas as colunas é a mesma, como era esperado. No primeiro caso, onde não se tem o íon metálico, a anilina fica mais tempo retida que a N,N-dietilanilina porque é mais polar e pode interagir com a fase estacionária por ligações de hidrogênio com os grupos -NH₂ e possivelmente com os silanóis da sílica. Já no segundo caso, percebe-se que além das interações por ligações de

hidrogênio, tem-se a interação do átomo de nitrogênio através de seu par de elétrons livre da base de Lewis com o centro ácido de Lewis do Cu^{2+} . Isto faz com que estes compostos fiquem mais retidos, principalmente a anilina. Dessa forma, o centro metálico parece aumentar a separação entre os picos. Foram calculados os parâmetros cromatográficos para estas separações e estão nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura 2 em uma coluna recheada com sil-AEAPTS ($t_M = 3,10$ min).

	k	N/m	As	α	Rs
N,N-dietilanilina	0,09	10.540	1,7	3,3	1,8
anilina	0,30	10.180	1,8	---	---

Tabela 8: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura 2 em uma coluna recheada com sil-AEAPTS- Cu^{2+} ($t_M = 2,80$ min).

	k	N/m	As	α	Rs
N,N-dietilanilina	0,19	12.040	2,0	4,06	3,43
anilina	0,763	6.630	2,3	---	---

A presença do íon metálico na fase estacionária faz com que os picos apresentem cauda e assim os valores de assimetria são relativamente maiores.

De uma maneira geral percebe-se que a resolução entre os dois picos foi maior quando se utilizou a coluna com o Cu^{2+} . O íon deve interagir com o grupo - NH_2 da anilina, fazendo com que o seu tempo de retenção aumente, originando a cauda e diminuindo drasticamente o N/m para este composto, quando comparado com os resultados obtidos na coluna-sil-AEAPTS.

4.2.2.3 Separação das misturas 1 e 2 em sil-AEAPTS-CH₃ e sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺

Como discutido anteriormente, verificou-se um aumento considerável na população dos grupos silanóis, após a adsorção do íon Cu²⁺ na sílica sil-AEAPTS. Com isso a polaridade da fase estacionária aumentou e dessa maneira ficou difícil inferir se a melhor separação das aminas aromáticas ocorreu devido à presença do íon cobre ou ao aumento dos grupos silanóis residuais. Para minimizar este efeito, foi realizada a reação de desativação destes grupos silanóis, com clorotrimetilsilano e em seguida foi feita a separação das misturas sintéticas 1 e 2 nas colunas recheadas com a sil-AEAPTS-CH₃ e sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺.

O cromatograma da mistura 1 na coluna sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ é mostrado na figura 25 e logo a seguir são apresentados os valores dos parâmetros cromatográficos (tabela 9).

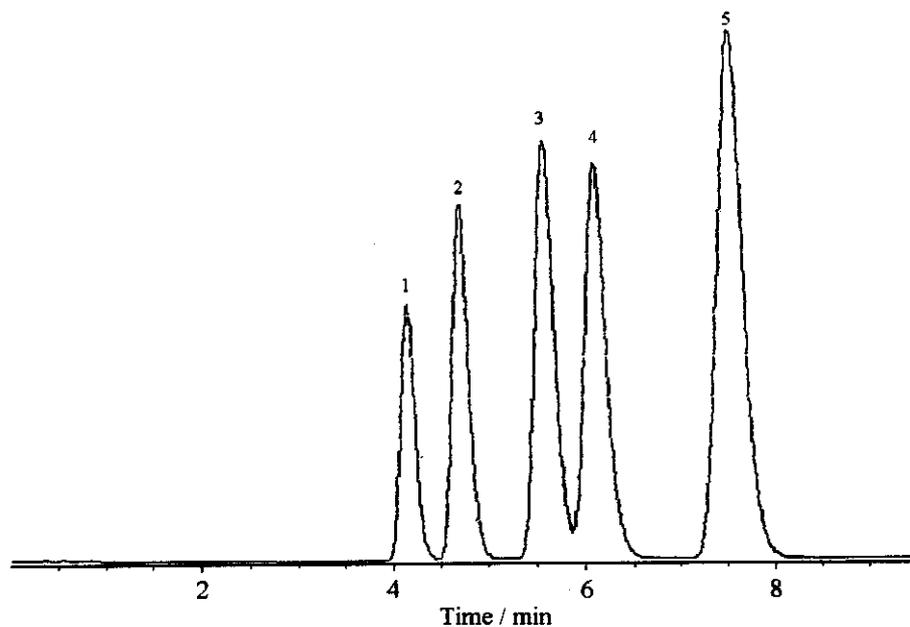


Fig. 25: Cromatograma da mistura 1, benzeno (1), naftaleno (2), antraceno (3), pireno (4) e nitrobenzeno (5) obtido na coluna sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺. Condições cromatográficas: idênticas às da figura 22 com $t_M = 3,45$ min.

Tabela 9: Parâmetros cromatográficos para a mistura sintética 1 na coluna sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ (t_M = 3,45 min).

soluto	k	N/m	As	α	Rs
benzeno	0,20	21640	1,4	1,8	1,9
naftaleno	0,36	25630	1,4	1,7	2,6
antraceno	0,62	24170	1,4	1,3	1,4
pireno	0,78	25790	1,4	1,5	3,2
nitrobenzeno	1,2	24260	1,4	----	-----

A ordem de eluição dos compostos foi a mesma nas colunas onde não foi feito o capeamento dos grupos silanóis. Verificou-se que foram obtidos valores razoáveis de assimetria e um maior valor do número de pratos o que implica em uma maior eficiência, quando comparado com as colunas preparadas anteriormente (ver tabela 4)

Pode-se afirmar que o capeamento melhorou a eficiência da coluna, mas não mudou a seletividade da fase, uma vez que a ordem de eluição permaneceu a mesma. Nesta coluna foi obtida uma menor resolução para todos os compostos, quando comparado com a coluna sil-AEAPTS-Cu²⁺, devido ao bloqueio dos grupos silanóis.

A separação desta mesma mistura na coluna sem o íon cobre resultou na mesma ordem de eluição de acordo com o cromatograma da figura 26.

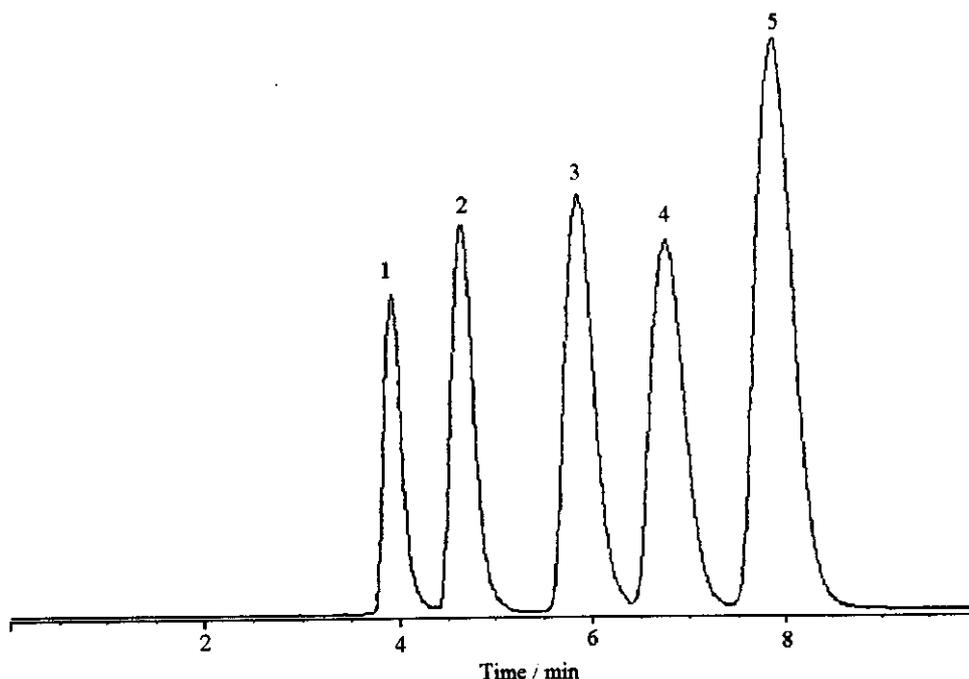


Fig. 26: Cromatograma da mistura 1, benzeno (1), naftaleno (2), antraceno (3), pireno (4) e nitrobenzeno (5) obtido na coluna sil-AEAPTS-CH₃. Condições cromatográficas: idênticas às da figura 22 com $t_M = 3,05$ min.

Tabela 10: Parâmetros cromatográficos para a mistura sintética 1 na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃ ($t_M = 3,05$ min).

soluto	k	N/m	As	α	Rs
benzeno	0,29	16020	1,4	1,7	1,4
naftaleno	0,49	17310	1,6	3,5	1,9
antraceno	0,83	15670	1,5	1,5	1,3
pireno	1,1	15460	2,0	1,4	1,4
nitrobenzeno	1,4	17030	1,7	----	----

Comparando-se os resultados das tabelas 9 e 10, conclui-se que a coluna sem o íon cobre apresentou uma menor eficiência e valores de assimetria maiores. Estes valores indicam que o enchimento desta coluna não foi procedido com o mesmo

sucesso que o da coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺. Percebeu-se que a presença do íon cobre na fase estacionária quimicamente modificada, aumenta o carácter polar da fase estacionária na separação do mistura teste 1. Porém, a reação de capeamento dos grupos silanóis melhorou a eficiência da coluna, diminuindo os valores de assimetria para os solutos da mistura teste 1.

A separação da mistura teste 2 foi realizada nas duas colunas, sem e com o íon cobre e os cromatogramas de separação nas duas colunas estão mostrados respectivamente nas figuras 27 e 28.

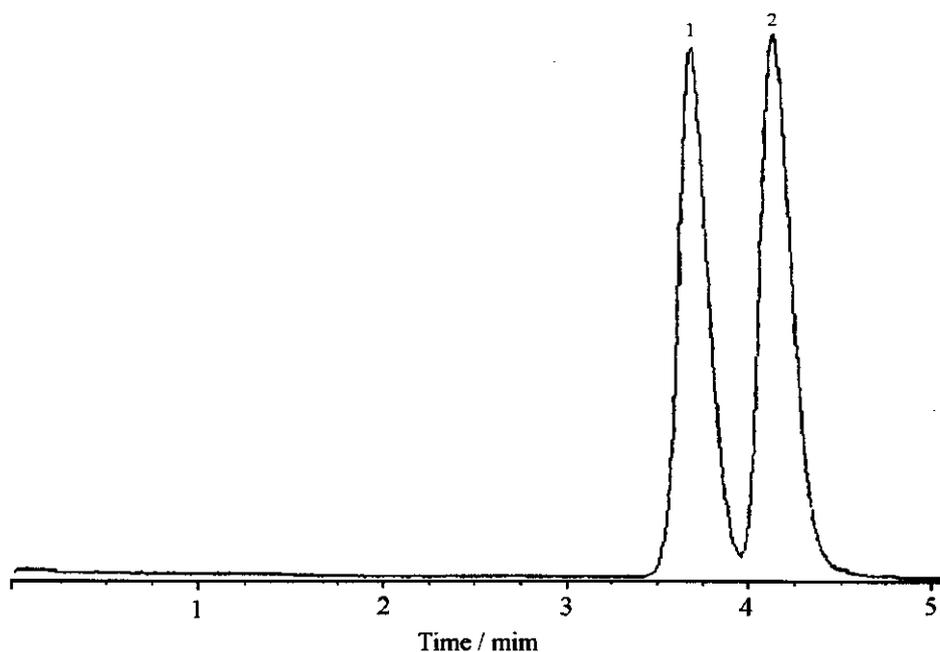


Fig. 27: Cromatograma da mistura 2 (*N,N*-dietilanilina (1) e anilina (2)) na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃. Condições cromatográficas: idênticas as da figura 24, volume de injeção de 10 µL, FM diclorometano / metanol (98:2 v/v), vazão = 0,4 mL min⁻¹, detecção UV em 254 nm e *t*_M = 3,38 min.

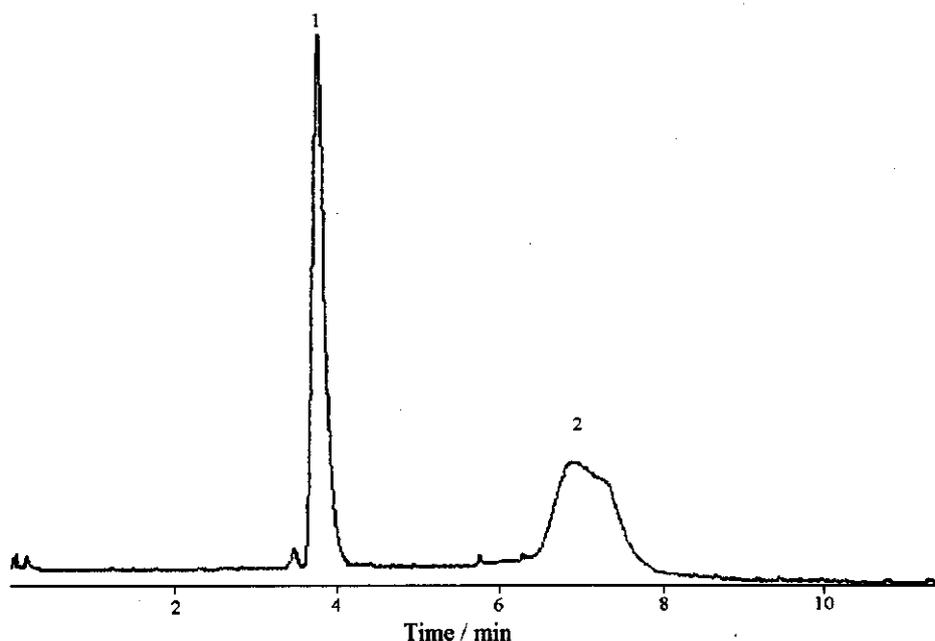


Fig. 28: Cromatograma da mistura 2 (N,N-dietilanilina (1) e anilina (2)) na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺. Condições cromatográficas: idênticas as da figura 27 com $t_M = 3,40$ min.

O tempo de retenção para a anilina na coluna recheada com a sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ foi relativamente alto fazendo com que houvesse adsorção quase irreversível. Tal fenômeno fez com que a eficiência calculada desta coluna para a anilina fosse extremamente baixa, comparando com os valores obtidos na coluna sem o ion cobre, como mostram as tabelas 11 e 12.

Tabela 11: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura 2 na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃ ($t_M = 3,38$ min)

	k	N/m	As	α	Rs
N, N-dietilanilina	0,11	17060	1,5	2,2	1,4
anilina	0,25	16310	1,7	----	----

Tabela 12: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura 2 na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺ (t_M = 3,40 min).

	k	N/m	As	α	Rs
N, N-dietilanilina	0,08	17670	1,7	30	3,7
anilina	2,4	2470	2,8	----	----

Na fase estacionária que contém o íon cobre, observa-se uma grande mudança na sua seletividade, principalmente para a anilina que passa a apresentar um grande tempo de retenção, quando comparado com a fase estacionária sem o íon cobre. Esse alto tempo de retenção pode ser explicado pela interação dos elétrons do nitrogênio da anilina com o íon Cu²⁺.

A presença dos íons Cu²⁺ adsorvidos na fase estacionária facilita a presença de centros ácidos de Lewis, que são deficientes em elétrons. Esta interação é relativamente forte, resultando em uma baixa eficiência e um alto valor de assimetria para anilina na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺.

Para melhorar a separação da mistura teste 2 na coluna sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺, foi necessário alterar a composição da fase móvel, aumentando a proporção de metanol para 20 % em volume. O cromatograma obtido nestas condições encontra-se na figura 29.

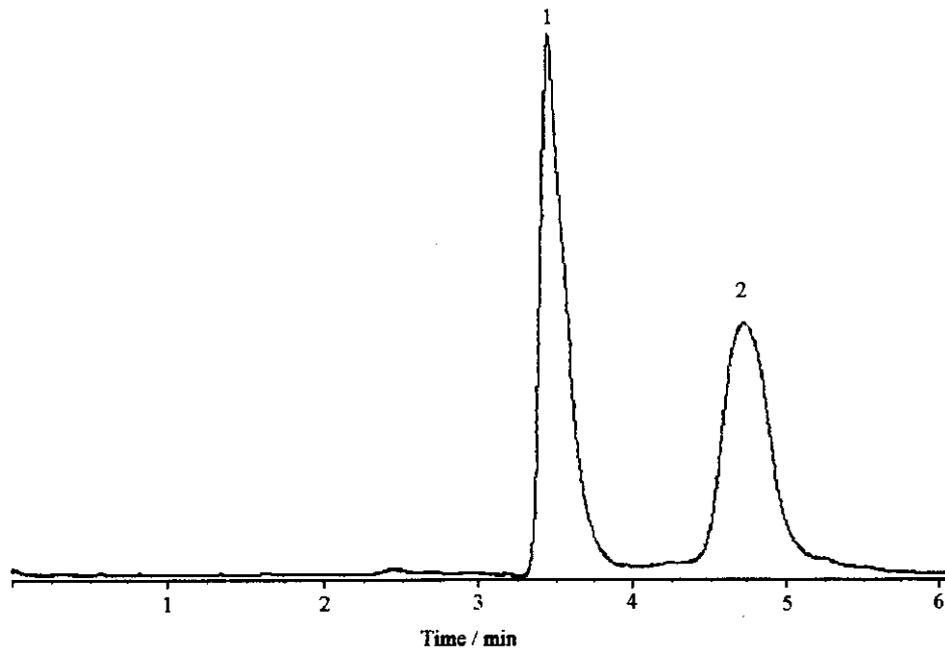


Fig. 29: Cromatograma da mistura 2 (N,N-dietilanilina (1) e anilina (2)) na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃-Cu²⁺. Condições cromatográficas: volume de injeção de 10 μL, FM: diclorometano:metanol (80:20 v/v), vazão de 0,4 mL min⁻¹, detecção UV em 254 nm e t_M = 3,40 min.

Tabela 13: Parâmetros cromatográficos obtidos na separação da mistura teste 2, utilizando a nova fase móvel composta por diclorometano:metanol na proporção 80:20 v/v.

	k	N/m	As	α	Rs
N, N dietilanilina	0,03	14180	1,7	19	4,5
anilina	0,38	7890	1,2	----	----

Os parâmetros cromatográficos foram calculados, obtendo-se um menor fator de retenção para a anilina na coluna e dessa maneira aumentando a eficiência como mostra os valores da tabela 13. Dessa maneira verificou-se experimentalmente que a anilina interage com o íon Cu²⁺, adsorvido na fase estacionária, ficando mais tempo retida.

Como finalidade de comparar os dados obtidos com a coluna preparada em nosso laboratório, com uma coluna comercial, escolheu-se a coluna Bondesil-NH₂ e operou-se nas mesmas condições experimentais da figura 27. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 14.

Tabela 14: Parâmetros cromatográficos da separação da mistura teste 2 com a coluna Bondesil-NH₂, nas seguintes condições cromatográficas: volume de injeção de 10 µL, FM diclorometano / metanol (98:2 v/v), vazão de 0,4 mL min⁻¹, detecção UV 254 nm. (t_M = 4,95 min).

	k	N/m	As	α	Rs
N, N-dietilanilina	0,11	56.250	1,1	2,0	2,1
anilina	0,20	49.310	1,1	----	----

Como já era esperado, a coluna comercial apresentou uma eficiência bastante superior quando comparada com a coluna sil-AEAPTS-CH₃ (tabela 11) recheada em nosso laboratório. Porém, se observa o mesmo comportamento cromatográfico em ambas as colunas, sendo que a N,N-dietilanilina apresenta um fator de retenção menor que o da anilina.

Na coluna Bondesil-NH₂ existem grupos do tipo propilamina ligados covalentemente às partículas de sílica, enquanto que na coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃ estão presentes grupos do tipo etilenodiamina. Portanto a coluna recheada com sil-AEAPTS-CH₃, deveria ser relativamente mais polar devido à presença de mais um grupo amina, porém os resultados da separação cromatográfica da mistura teste 2 mostraram uma polaridade bastante semelhante a da coluna comercial. Os valores de assimetria continuam menores na coluna comercial, como já havia sido observado na separação dos hidrocarbonetos poliaromáticos.

5) Conclusões

Os estudos iniciais concentraram-se na caracterização do material obtido após a reação de recobrimento pelas técnicas de espectroscopia na região do IV, RMN de ^{13}C e ^{29}Si aplicado a sólidos, ultravioleta e visível, análise elementar e também termogravimetria. Através dos resultados obtidos, verificou-se que a síntese é bastante reprodutível e se obtém uma superfície homogênea onde a concentração do aminosilano é de $0,46 \text{ mmol g}^{-1}$ de sílica.

Após a reação de desativação dos grupos silanóis residuais, percebeu-se um aumento considerável no percentual de carbono no material, indicando que a reação ocorreu com sucesso. A concentração de íons Cu^{2+} adsorvidos na superfície da sílica, determinada por absorção atômica, foi de $0,23 \text{ mmol g}^{-1}$, indicando que o íon cobre (II) está coordenado a quatro átomos de nitrogênio.

A influência do cátion na separação de alguns hidrocarbonetos poliaromáticos foi comprovada, tendo observado um menor tempo de retenção dos componentes da mistura 1 na coluna com o íon cobre, utilizando a mesma composição da fase móvel. O tipo de interação que ocorre pode ser atribuído a três hipóteses.

a) a presença do íon metálico faz com que haja sítios de adsorção deficientes em elétrons.

b) A complexação dos grupos amina com o íon cobre faz com que a interação destes grupos com os silanóis na superfície da sílica diminua consideravelmente. Dessa forma os grupos hidroxilas ficam mais expostos, aumentando a polaridade da fase estacionária e assim aumentando o tempo de retenção dos compostos mais polares.

c) Os íons Cu (II), centros ácidos de Lewis, são deficientes em elétrons e dessa forma diminuem consideravelmente a basicidade dos átomos de nitrogênio do grupo etilenodiamina, ancorado na superfície da sílica, devido à interação ácido - base.

Os resultados obtidos na separação das aminas aromáticas foram conclusivos, para verificar que a presença do íon cobre na fase estacionária aumenta o tempo de retenção das aminas, demonstrando que durante a separação cromatográfica, ocorre a troca de ligantes na esfera de coordenação do Cu (II) envolvendo as moléculas de solvente da fase móvel e as aminas aromáticas.

A reação de capeamento dos grupos silanóis com o agente clorotrimetilsilano, proporcionou um ganho de eficiência relativamente alto nas colunas recheadas com as respectivas sílicas metiladas. O bloqueio dos silanóis residuais evita as interações indesejáveis, diminuindo o alargamento do pico e aumentando a velocidade de transferência de massa, durante o processo da separação cromatográfica.

As colunas desenvolvidas em nosso laboratório demonstraram ser de grande potencial cromatográfico tanto na separação de uma pequena série de hidrocarbonetos poliaromáticos, como também na de aminas aromáticas.

6) Referências Bibliográficas

- [1] K. K. Unger, “ Porous Silica, Its Properties and Use as Support in Column Liquid Chromatography ”, 2ª edição, Elsevier, New York , 1979.
- [2] R. Arshady, *J. Chromatogr.*, **586** (1991) 181.
- [3] U. Schubert, N. Husing, A. Lorenz, *Chem. Mater.*, **7** (1995) 2010.
- [4] J. E. Mark, *Heterogeneous Chem. Rev.*, **3** (1996) 307.
- [5] J. Nawrocki, *J. Chromatogr. A.*, **779**, (1997) 29.
- [6] K. E. Bij, C. Horváth, W. R. Melander, A. Nahum, *J. Chromatogr.*, **203** (1981) 65.
- [7] L. T. Zhuravlev, *Pure Appl. Chem.*, **61** (1989) 1969.
- [8] B. A. Morrow, A. J. McFarlan, *Langmuir*, **7** (1991) 1695.
- [9] J. Köhler, J. J. Kirkland, *J. Chromatogr.*, **385** (1987) 125.
- [10] J. Köhler, R. D. Farlee, A. J. Vega, J. J. Kirkland, *J. Chromatogr.*, **352** (1986) 275.
- [11] T. A. Anazawa, “ Preparação, Caracterização e Avaliação de Diferentes Fases Estacionárias Reversas, tipo C8, para CLAE ”, Tese de Doutorado, IQ-UNICAMP, Campinas, 1996.
- [12] P. van der Voot, E. F. Vansant, *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.*, **19** (1996) 2723.
- [13] U. Deschler, P. Kleinschmit, P. Panster, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **25** (1996) 236.
- [14] C. R. Silva, C. Airoidi, *J. Colloid Interface Sci.*, **195** (1997) 381.

- [15] M. Pursch, A. Jäger, T. Schneller, R. Brindle, K. Albert, E. Lindner, *Chem. Mater.*, **8** (1996) 1245.
- [16] J. P. Blitz, R. S. S. Murthy, D. E. Leyden, *J. Am. Chem. Soc.*, **109** (1987) 7141.
- [17] J. P. Blitz, R. S. S. Murthy, D. E. Leyden, *J. Colloid Interface Sci.*, **109** (1987) 7141.
- [18] B. Arkles, *Chemtech*, **7** (1977) 766.
- [19] S. C. N. Queiroz, “Estudos das Variáveis Experimentais no Desempenho de Colunas Recheadas”, Tese de Mestrado, IQ-UNICAMP, Campinas, 1995.
- [20] C. F. Poole, S. K. Poole, *Anal. Chim. Acta*, **216**, (1989) 109.
- [21] C. H. Collins, G. L. Braga, P. S. Bonato, “Introdução a Métodos Cromatográficos”, 4ª edição, Editora da UNICAMP, Campinas, 1990.
- [22] J. Cadet, M. Weinfeld, *Anal. Chem.*, **65** (1993) 675.
- [23] U. D. Neue, D. J. Phillips, T. H. Walter, M. Capparella, B. Alden, R.P. Fisk, *LC-GC*, **12** (1994) 468.
- [24] S. K. C. Chang, E. Holm, J. Schwarz, P. Rayas, *Anal. Chem.*, **67** (1995) 127R.
- [25] A. K. D. Liem, R. A. Baumann, A. P. J. M. de Jong, E. G. van der Velde, P. Zoonen, *J. Chromatogr.*, **624** (1992) 317.
- [26] W. S. Hancock, “HPLC in Biotechnology”, Wiley, New York, 1990, p 1-19.
- [27] C. Schoneich, A. F. R. Huhmer, S. R. Rabel, J. F. Stobaugh, S. D. S. Jois, C. K. Larive, T. J. Siahaan, T. C. Squier, D. J. Bigelow, T. D. Williams, *Anal. Chem.*, **67** (1995) 155R.
- [28] J. E. Dolan, *LC-GC*, **16** (1998) 350.
- [29] T. A. Anazawa, I. C. S. F. Jardim, *J. Liq. Chromatogr.*, **17** (1994) 1265.

- [30] Y. Machida, H. Nishi, K. Nakamura, H. Nakai, T. Sato, *J. Chromatogr. A.*, **757** (1997) 73.
- [31] W. Lindner, *Chromatographia*, **24** (1987) 97.
- [32] M. Scheleimer, W. H. Pirkle, V. Schurig, *J. Chromatogr. A.*, **679** (1994) 23.
- [33] S. Oi, H. Ono, H. Tanaka, M. Shijo, S. Miyano, *J. Chromatogr. A.*, **679** (1994) 35.
- [34] Y. Okamoto, M. Kawashina, R. Aburatani, K. Hatada, T. Nishiyama, M. Masuda, *Chem. Lett.*, (1986) 1237.
- [35] S. Chang, G. L. Reid, S. Chen, C. D. Cahand, D. W. Armstrong, *Trends Anal. Chem.*, **12** (1993) 144.
- [36] D. W. Armstrong, Y. Tang, S. Chen, Y. Zhou, C Bagwill, L. R. Chen, *Anal. Chem.*, **66** (1994) 1473.
- [37] D. W. Armstrong, K. Rundlet, G. L. Reid, *Anal. Chem.*, **66** (1994) 1690.
- [38] D. W. Armstrong, Y. Liu, K. H. Ekborgott, *Chirality*, **7** (1995) 474.
- [39] T. Shinbo, T Yamaguchi, K. Nishimura, M. Sugiura, *J. Chromatogr.*, **405** (1987) 145.
- [40] S. Allenmark, B. Bomgreen, H. Boren, *J. Chromatogr.*, **264** (1983) 63.
- [41] F. G. Helfferich, *Nature*, **189** (1961) 1001.
- [42] J. A. Blacwell, P. W. Carr, *J. Liq. Chromatogr.*, **15** (1992) 727.
- [43] D. Kunzru, R. W. Frei, *J. Chromatogr. Sci.*, **12** (1974) 191.
- [44] F. K. Chow, E. Grushka, *Anal. Chem.*, **49** (1977) 1756.
- [45] A. L. Khurana, C. T. Ho., *J. Liq. Chromatogr.*, **11**, (1988) 3205.

- [46] N. Baccan, J. C. Andrade, O. E. S. Godinho e J. S. Barone, "Química Analítica Quantitativa Elementar", 2ª edição, Editora Edgar Blücher, Campinas, 1985.
- [47] H. Brückner, W. Wachsmann, *J. Chromatogr. A.*, **128** (1996) 447.
- [48] D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, "Introduction to Spectroscopy", 2ª ed., Saunders, New York, 1996.
- [49] W. D. Sindorf, E. G. Maciel, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, (1980) 7609.
- [50] C. A. Fyfe, Y Zhang, P. Aroca, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, (1992) 3252.
- [51] W. D. Sindorf, E. G. Maciel, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, (1983) 3767.
- [52] K. Albert, R. Brindle, J. Schmid, B. Buszewski, E. Bayer, *Chromatographia*, **38**, (1994) 283.
- [53] J. J. Yang, I. M. El-Nahhal, G. E. Maciel, *J. Non Cryst. Solids*, **204**, (1996) 105.
- [54] J. J. Yang, I. M. El-Nahhal, I. S. Chuang, G. E. Maciel, *J. Non Cryst. Solids*, **209**, (1997) 19.
- [55] A. R. Cestari, "Imobilização de Diaminas com Cadeias Longas pelo Processo Sol-Gel e Estudos de suas Interações com Cátions Metálicos", Tese de Doutorado, IQ-UNICAMP, Campinas, 1996.
- [56] A. B. P. Lever, "Inorganic Electronic Spectroscopy", 2ª ed., Elsevier, New York, 1984.
- [57] D. F. Shriver, P. W. Atkins, C. H. Langford, "Inorganic Chemistry", Oxford, Oxford, 1990.
- [58] E. F. C. Alcantara, C. Airoidi, O. Nakamira, H. Vargas, F. Paixão, *Polyedron*, **11** (1992) 1701.

[59] C. F Poole, S. A Schuette, "Contemporary Practice of Chromatography", Elsevier, New York, 1979.