



UNICAMP



1150056521



IQ

T/UNICAMP M792p 2

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Preparação de Fases Estacionárias Para
Cromatografia Líquida da Alta Eficiência
(CLAE) a Partir de Sílica Titanizada e
Polibutadieno**

**Lais Sayuri Ribeiro de Moraes
Dissertação de Mestrado**

Orientação: Prof^a. Dr^a. Isabel C. S. F. Jardim

Julho - 2003

UNIDADE	IQ
Nº CHAMADA	M792p
V	EX
TOMBO BC	56521
PROC.	16-124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	07/12/03
Nº CPD	

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

M792p

Morais, Lais Sayuri Ribeiro de.

Preparação de fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) a partir de sílica titanizada e polibutadieno / Lais Sayuri Ribeiro de Moraes. -- Campinas, SP: [s.n], 2003.

Orientadora: Isabel C. S. F. Jardim.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. CLAE. 2. Sílica titanizada. 3. Polibutadieno.
4. Microondas. I. Jardim, Isabel C. S. F.
- II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Isabel Jardim por ter me dado a honra de ser minha orientadora; também pela paciência, compreensão, amizade e acima de tudo, atenção e apoio nos momentos mais difíceis.

À minha família: Miioco, Francisco e Eduardo, por acreditar, incentivar e apoiar, mesmo quando eu errava.

À Prof^a. Dr^a. Carol H. Collins pelos conselhos francos acerca do trabalho e também pelas broncas e gargalhadas durante este período de convivência.

Ao Prof. Dr. Kenneth E. Collins pelo exemplo de calma e serenidade em todos os momentos.

À grande amiga Roberta pela enorme paciência, apoio e amizade durante todos estes anos.

À Dr^a. Miriam Sannomiya, amiga e verdadeira orientadora na iniciação científica, por ter indicado o melhor caminho.

Às amigas e “co-orientadoras” Carla, Dania, Nilva e Zahra pela amizade e ensinamentos, não só de cromatografia, mas principalmente a respeito da vida.

Aos amigos Allan, Josimara, Cíntia, Camila, Daniel e Vanessa pela amizade nos momentos mais difíceis, por aguentar o meu “bom humor” e por tornar os meus dias no laboratório os melhores possíveis.

Aos amigos e colegas: Lika, Karen, César, Priscila, Fabiano, Leonardo, Roberta, Mariza, Roberto, Ralf, Edivan, Lucia, Marcelo, Neto, Valtinho pelo companheirismo, convivência agradável e pacífica.

Aos amigos Gisele, Ramon, distantes, mas sempre apoiando nos bons e maus momentos.

Aos membros da Comissão de Pós-Graduação: Rodrigo, Isabel e Celi, pelo bom humor, atenção e paciência com que sempre me atenderam.

Às técnicas Adélia (Análise de carbono), Fabiana (TGA), Márcia (Infravermelho) e Helena (Fluorescência de raios-X) pela rapidez nas análises.

Ao funcionário Manoel por estar sempre zelando pelo nosso bem-estar.

À Capes e Fapesp pelo apoio financeiro.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron pelas análises de absorção de raios-X.

CURRICULUM VITAE

Lais Sayuri Ribeiro de Moraes

1. FORMAÇÃO ACADÊMICA

- Bacharelado em Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, março de 1996 a agosto de 2001.
- Mestrado em Química Analítica, DQA-IQ-UNICAMP, Laboratório de Pesquisas em Cromatografia Líquida (LabCrom), Campinas, SP, de setembro de 2001 a agosto de 2003.

2. CURSOS

- “Separações Quirais: CLAE e Eletroforese Capilar”, 18/07/2001, realizado no 11º ENQA - UNICAMP - Campinas, ministrado pela Profª. Drª Pierina Sueli Bonato.
- “Química Forense”, 07-11/11/2001, realizado na I Semana de Química do Instituto de Química - UNICAMP – Campinas, ministrado pelo Dr. Márcio Talhavini.
- “Eletroforese Capilar”, 06/11/2002, realizado na Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP – Campinas, ministrado pela Profª Marina Franco Maggi Tavares.

3. Trabalhos apresentados em Congressos

- “Avaliação Cromatográfica de Fases Estacionárias Preparadas com Sílica Modificada e Polibutadieno (PBD)”, Moraes, L. S. R., Jardim, I. C. S. F.; 26ª Reunião Anual da SBQ, 05/2003, Poços de Caldas, MG.

RESUMO

Título: Preparação de Fases Estacionárias para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) a Partir de Sílica Titanizada e Polibutadieno.

Autora: Lais Sayuri Ribeiro de Moraes

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

Palavras chaves: CLAE, sílica titanizada, polibutadieno.

A finalidade deste trabalho foi o desenvolvimento de uma nova fase estacionária para CLAE-FR (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Fase Reversa) baseada em polibutadieno (PBD) imobilizado por radiação microondas sobre a sílica modificada por óxido de titânio.

A modificação da sílica com titânio consistiu da ligação do reagente de titânio à sílica e hidrólise da sílica titanizada. Este procedimento apresentou alta reprodutibilidade, com incorporação média de 8,9% de titânio nos quatro lotes preparados, determinada por fluorescência de raios-X. A sílica titanizada foi então utilizada como suporte na preparação de fases estacionárias com polibutadieno auto-imobilizado e imobilizado por radiação microondas.

Foram estudadas várias combinações de tempo e potência do forno de microondas. A fase irradiada por 1800 s na potência de 520 W foi a que apresentou maior eficiência, 86500 N/m, superior à eficiência de 69500 N/m obtida com a fase auto-imobilizada por 6 dias. Entretanto, as fases imobilizadas por radiação microondas apresentaram baixa estabilidade frente à passagem de fases móveis neutras e básicas. Foram também avaliadas fases auto-imobilizadas preparadas com sílica nua. Estas apresentaram uma eficiência inferior, 43800 N/m, a das fases auto-imobilizadas preparadas com sílica titanizada, justificando a utilização da mesma.

O suporte e as melhores fases estacionárias auto-imobilizadas e imobilizadas por microondas foram caracterizados por algumas técnicas. A absorção de raios-X duros com luz Síncrotron indicou que o titânio depositado na sílica encontrava-se na forma cristalina. A espectroscopia no infravermelho mostrou que o PBD foi incorporado na sílica titanizada e a análise elementar comprovou que essa incorporação foi maior nas fases imobilizadas por radiação microondas. Foi determinada também a área superficial da sílica nua e titanizada.

Abstract

Title: Preparation of Stationary Phases for HPLC Using of Titanium Modified-Silica and Polybutadiene.

Author: Lais Sayuri Ribeiro de Moraes

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

Key-words: HPLC, Titanized Silica, Polybutadiene.

The aim of this work was the development of a new stationary phase for RP-HPLC based on polybutadiene immobilized through microwave radiation onto titanium oxide-modified silica.

The preparation of titanium oxide-modified silica consisted in bonding the titanium reagent to silica followed by hydrolysis of the titanized silica. This experimental procedure achieved high reproducibility, with incorporation of approximately 8,9% of titanium in all four preparations, as determined by X-ray fluorescence. The titanized silica was then used as support in the preparation of stationary phases with self-immobilized polybutadiene and polybutadiene immobilized through microwave radiation.

Several combinations of time and microwave oven power were studied. The stationary phase irradiated for 1800 s at 520 W presented the best efficiency, 86500 N m^{-1} , greater than to the efficiency of the six-day self-immobilized phase, 69500 N m^{-1} . However, immobilization through microwave radiation resulted in stationary phases with low stability to neutral and basic mobile phases. Self-immobilized stationary phases prepared with bare silica were also studied for comparison. These resulted in lower chromatographic performances, 43800 N m^{-1} , when compared to self-immobilized phases prepared with titanized silica. This comparison justifies the use of titanized silica as a support for polymeric stationary phases.

The support and the self-immobilized and microwave radiation immobilized stationary phases, which gave on best performances were characterized by several techniques. Hard X-ray absorption (synchrotron light source) showed that the titanium deposited on silica was in a crystalline form. The Infrared spectroscopy showed that PBD was incorporated on titanized silica and elemental analysis confirmed that this incorporation was greatest in microwave radiation immobilized stationary phases. Bare silica and titanized silica specific surface areas were also determined.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS.....	xvii
------------------------	------

ÍNDICE DE FIGURAS	xix
-------------------------	-----

1) <u>INTRODUÇÃO</u>	1
1.1) Conceitos Gerais de Cromatografia.....	1
1.2) Classificação dos Métodos Cromatográficos.....	2
1.3) Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	3
1.4) Suportes e Fases Estacionárias Reversas.....	3
1.5) Fases Estacionárias Quimicamente Ligadas.....	4
1.6) Fases Estacionárias com Polímeros Sorvidos, Auto-imobilizados ou Imobilizados sobre o Suporte.....	5
1.7) A Sílica e sua Estrutura.....	7
1.8) Suportes Alternativos a Sílica.....	9
1.9) Sílica Modificada por Titânia ou Zircônia.....	10
1.10) Polibutadieno.....	12
1.11) Radiação Microondas.....	14
1.12) Avaliação de Colunas Cromatográficas.....	16
2) <u>OBJETIVOS</u>	23
3) <u>PARTE EXPERIMENTAL</u>	24
3.1) Materiais.....	24
3.1.1) Reagentes e Solventes.....	24
3.1.2) Sílica e Fase Líquida.....	25

3.1.3) Coluna Cromatográfica.....	25
3.2) Equipamentos.....	26
3.3) Síntese da Sílica Titanizada (Suporte Cromatográfico).....	28
3.4) Preparação da Fase Estacionária.....	29
3.5) Calibração do Forno de Microondas.....	30
3.6) Irradiação das Fases Estacionárias.....	31
3.6.1) 1º Estudo: Variação de Potência e Tempo.....	31
3.6.2) 2º Estudo: Variação do Tempo com Potência 586 W.....	31
3.6.3) 3º Estudo: Variação do Tempo com Potência 51 W.....	32
3.6.4) 4º Estudo: Variação da Potência com Tempo de 1800 s.....	32
3.6.5) 5º Estudo: Variação do Tempo de Imobilização.....	32
3.6.6) 6º Estudo: Variação do Intervalo de Imobilização.....	32
3.7) Extração com Solventes.....	33
3.8) Enchimento de Coluna.....	33
3.8.1) Preparação da Suspensão.....	33
3.8.2) Procedimento para o Enchimento das Colunas.....	34
3.9) Preparação da Fase Móvel.....	35
3.10) Condicionamento das Colunas.....	36
3.11) Caracterização Física do Suporte e Fases Estacionárias.....	36
3.11.1) Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva.....	36
3.11.2) Espectroscopia no Infravermelho.....	37
3.11.3) Análise Termogravimétrica.....	37
3.11.4) Medida de Área Superficial Específica.....	37
3.11.5) Medida do Diâmetro Médio (Dp) e Volume Específico (Vp) dos Poros.....	38

3.11.6) Espectroscopia de Absorção de Raios-X Duros (XAS) com Luz Síncrotron.....	38
3.12) Caracterização Química da Sílica Nua, Sílica Titanizada e das Fases Estacionárias.....	39
3.12.1) Análise Elementar de Carbono.....	39
3.12.2) Espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS).....	39
3.13) Caracterização Cromatográfica das Fases Estacionárias.....	40
3.13.1) Determinação da Vazão Através da Curva de van Deemter....	41
3.13.2) Avaliação Cromatográfica de Fases Auto-imobilizadas Preparadas com Sílica Nua e Titanizada.....	41
3.14) Estabilidade Química das Fases Estacionárias Auto-Imobilizadas e Imobilizadas por Radiação Microondas.....	42
4) <u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	44
4.1) Síntese do Suporte Cromatográfico.....	44
4.2) Caracterização do Suporte e das Fases Estacionárias com Testes Físicos.....	45
4.2.1) Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva.....	45
4.2.2) Medida da Área Superficial Específica, Diâmetro Médio (dp) Volume Específico (vp) dos Poros.....	46
4.2.3) Espectroscopia no Infravermelho.....	47
4.2.4) Análise Termogravimétrica.....	50
4.2.5) Absorção de Raios-X Duros (XAS) com Luz Síncrotron.....	51
4.3) Caracterização do Suporte e das Fases Estacionárias com Testes Químicos.....	53
4.3.1) Análise Elementar de Carbono.....	53

4.3.2) Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS).....	54
4.4) Calibração do Forno de Microondas.....	55
4.5) Avaliação Cromatográfica.....	57
4.5.1) Otimização da Carga de PBD.....	57
4.5.2) Definição da Vazão de Trabalho: Fase Auto-imobilizada com 40 % de Carga Inicial de PBD.....	60
4.5.3) Avaliação Cromatográfica das Fases Auto-Imobilizadas Preparadas com Sílica Nua e Sílica Titanizada	62
4.5.4) Estudo das Condições do Forno de Microondas.....	64
4.5.4.1) 1º Estudo: Variação de Potência e Tempo.....	64
4.5.4.2) 2º Estudo: Variação do Tempo com Potência 586 W.....	67
4.5.4.3) 3º Estudo: Variação do Tempo com Potência 51 W.....	70
4.5.4.4) 4º Estudo: Variação da Potência com Tempo de 1800 s.....	72
4.5.4.5) 5º Estudo: Variação do Tempo e Intervalo de Imobilização com potência 586 W.....	75
4.5.5) Avaliação de Fases Auto-Imobilizada e Imobilizada por Radiação Microondas com a Mistura Teste 2	76
4.6) Estabilidade Química das Fases Estacionárias Auto-Imobilizadas e Imobilizadas por Radiação Microondas.....	78
4.7) Considerações Gerais sobre o Trabalho.....	84
5) <u>CONCLUSÃO</u>	87
6) <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	89

Índice de Tabelas

<i>Tabela 1</i> – Teor de titânio na sílica nua e sílica titanizada.....	45
<i>Tabela 2</i> – Valores de dp e vp para a sílica nua e titanizada.....	46
<i>Tabela 3</i> – Área superficial específica da sílica nua, titanizada e da fase auto-imobilizada com carga inicial de 40% de PBD.....	46
<i>Tabela 4</i> – Número de coordenação e distância da ligação Ti-O para as amostras de sílica titanizada e o padrão de anatásia.....	52
<i>Tabela 5</i> – Teor de carbono na sílica nua e nas sílicas titanizadas.....	53
<i>Tabela 6</i> – Concentração de metais na sílica nua.....	54
<i>Tabela 7</i> – Potências determinadas (em Watts e porcentagem) para todos os níveis de potência programada do forno de microondas.....	56
<i>Tabela 8</i> – Porcentagem inicial e final de PBD, parâmetros cromatográficos e espessura da camada para as fases com 40, 50 e 60% de PBD inicial.....	59
<i>Tabela 9</i> – Parâmetros cromatográficos e porcentagem final de PBD das fases estacionárias auto-imobilizadas preparadas com sílica nua e sílica titanizada.....	62
<i>Tabela 10</i> – Testes iniciais com variação do tempo e da potência do forno de microondas.....	65
<i>Tabela 11</i> – Parâmetros cromatográficos obtidos com as fases imobilizadas em condições pré-determinadas e porcentagem final de PBD.....	65
<i>Tabela 12</i> – Influência do tempo de irradiação nos parâmetros cromatográficos, na porcentagem final de PBD e espessura da camada fixando-se a potência do forno de microondas em 586 W...	67

<i>Tabela 13</i> – Influência do tempo de irradiação, com intervalos de resfriamento de 120 s nos parâmetros cromatográficos fixando-se a potência do forno de microondas em 51 W.....	70
<i>Tabela 14</i> – Influência da potência de irradiação nos parâmetros cromatográficos das fases com tempo de irradiação 1800 s, intervalo de resfriamento 120 s e intervalo de imobilização 120 s....	73
<i>Tabela 15</i> – Influência do tempo e intervalo de imobilização nos parâmetros cromatográficos fixando-se a potência do forno de microondas em 586 W e o intervalo de resfriamento em 120 s.....	75
<i>Tabela 16</i> – Parâmetros cromatográficos obtidos na análise da mistura teste 2 com as fases estacionárias auto-imobilizada e imobilizada por 1800 s na potência de 586 W.....	76
<i>Tabela 17</i> – Composição das fases móveis usadas nos testes de estabilidade.....	78

Índice de Figuras

<i>Figura 1</i> – Tipos de silanóis presentes na superfície da sílica. ⁽¹⁶⁾	8
<i>Figura 2</i> – Microestruturas do PBD. ⁽³¹⁾	12
<i>Figura 3</i> – Esquema da resposta de uma molécula a um campo eletromagnético aplicado. (A) Moléculas polarizadas alinhadas com os pólos do campo eletromagnético; (B) Desordem termicamente induzida pela remoção do campo eletromagnético ⁽⁴²⁾	15
<i>Figura 4</i> – Esquema de um forno de microondas convencional. ⁽⁴²⁾	16
<i>Figura 5</i> – Cromatograma com as medidas relacionadas à determinação de parâmetros cromatográficos. ⁽³⁾	17
<i>Figura 6</i> – Determinação da assimetria e fator de alargamento do pico. ⁽⁴⁷⁾	20
<i>Figura 7</i> – Curva de van Deemter hipotética mostrando a relação entre eficiência e velocidade linear média da fase móvel. ⁽⁵⁾	22
<i>Figura 8</i> – Representação esquemática do sistema de enchimento de colunas.	34
<i>Figura 9</i> – Espectros no Infravermelho para: (A) Sílica nua; (B) Sílica titanizada; (C) PBD; (D) Fase auto-imobilizada; (E) Fase imobilizada por 60 s na potência de 70 W e (F) Fase imobilizada por 1800 s na potência de 520 W.	49
<i>Figura 10</i> – Curvas termogravimétricas para: (A) Sílica nua e (B) Sílica titanizada.	50
<i>Figura 11</i> – Espectro XAS da titânia na forma anatásia.	51
<i>Figura 12</i> – Espectros XANES das amostras de sílica titanizada e padrões de titânia (rutila e anatásia).	52

- Figura 13* – Relação entre potência absorvida e a potência programada do forno de microondas..... 56
- Figura 14* – Cromatogramas obtidos na otimização da carga inicial de PBD: A) 40%; B) 50% e C) 60%. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno.....60
- Figura 15* – Curva de van Deemter para a coluna de sílica titanizada com carga inicial de 40% de PBD..... 61
- Figura 16* – Cromatogramas obtidos para as fases auto-imobilizadas baseadas em: (A) Sílica nua e (B) Sílica titanizada. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno..... 64
- Figura 17* – Cromatogramas obtidos para a coluna III (P = 586 W, t = 30 s). A) 3ª injeção; B) 7ª injeção. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura padrão: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno.....66
- Figura 18* – Cromatogramas obtidos para as fases irradiadas na potência de 586 W com os seguintes tempos de irradiação: (A) 40; (B) 180 e (C) 600 s. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno..... 69

- Figura 19* – Cromatogramas obtidos para as fases irradiadas por 1800 s na potência de 51 W: (A) Sem extração e (B) Com extração. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno..... 71
- Figura 20* – Cromatogramas obtidos para as fases irradiadas por 1800 s nas potências: (A) P = 520 W, (B) P = 586 W sem ativação, C) P = 586 W com ativação. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno..... 74
- Figura 21* – Cromatogramas obtidos na análise da mistura teste 2: (A) Fase auto-imobilizada com carga inicial de 40% de PBD e (B) Fase imobilizada por 1800 s na potência 586 W. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 2: (1) fenol, (2) naftaleno, (3) N,N-dimetilanilina, (4) acenafteno..... 77
- Figura 22* – Teste de estabilidade da fase auto-imobilizada com carga inicial de 40% (Coluna I) utilizando FM MeOH:H₂O 60:40 v/v. (A) eficiência (N/m); (B) fator de retenção e (C) fator de assimetria..... 79
- Figura 23* – Teste de estabilidade da fase imobilizada por 1800 s na potência 520 W (coluna II), utilizando FM MeOH:H₂O 60:40 v/v. (A) eficiência (N/m); (B) fator de retenção e (C) fator de assimetria..... 80

- Figura 24* – Teste de estabilidade da fase imobilizada por 1800 s na potência 586 W (coluna III), utilizando FM MeOH:H₂O 60:40 v/v. (A) eficiência (N/m); (B) fator de retenção e (C) fator de assimetria..... 81
- Figura 25* – Teste de estabilidade da fase imobilizada por 1800 s na potência 586 W (coluna IV), utilizando FM MeOH:(NaOH_(aq.)), pH 9 60:40 v/v. (A) eficiência (N/m); (B) fator de retenção e (C) fator de assimetria..... 82

1) INTRODUÇÃO

1.1) Conceitos Gerais de Cromatografia

A Cromatografia compreende um grupo diversificado e importante de técnicas que efetuam a separação de vários componentes presentes em misturas complexas.⁽¹⁾ Durante as separações cromatográficas, a amostra é transportada por uma fase móvel (FM), que pode ser um gás, um líquido ou um fluido supercrítico. Essa fase móvel é então forçada a passar através de uma fase estacionária (FE), fixa, que pode ser um sólido ou um líquido suportado num sólido.^(1, 2) Além disso, a FE pode estar recheada em uma coluna ou distribuída como uma camada ou filme.⁽²⁾

A FM e a FE são escolhidas de modo que os componentes da amostra se distribuam entre elas em extensões variadas.⁽¹⁾ Dessa forma, após a amostra ser introduzida no sistema cromatográfico, os componentes são seletivamente retidos pela FE, resultando em migrações diferenciais.⁽³⁾ Os componentes que são mais fortemente retidos na fase estacionária movem-se mais lentamente no fluxo da fase móvel. Ao contrário, os componentes que interagem mais fracamente com a FE movem-se mais rapidamente. Como consequência dessas diferenças na mobilidade, os componentes da amostra separam-se em bandas que podem ser analisadas quantitativamente.⁽¹⁾

A separação pode ocorrer por processos físicos, químicos ou mecânicos, sendo que os processos físicos são de sorção – adsorção ou absorção (partição) – e são baseados principalmente em atrações eletrostáticas ou dipolares (forças de van der Waals), incluindo a formação de pontes de hidrogênio.⁽³⁾ Entretanto, para muitas separações o mecanismo real não é

claramente definido e pode envolver tanto adsorção, absorção ou uma combinação de ambos.⁽⁴⁾ Os processos químicos podem ser de troca iônica e os processos mecânicos de exclusão por tamanho.⁽³⁾

1.2) Classificação dos Métodos Cromatográficos

Uma das classificações dos métodos cromatográficos está baseada no meio físico no qual as fases estacionária e móvel entram em contato, cromatografia planar e em coluna. Na cromatografia planar, a fase estacionária é suportada sobre uma superfície plana ou nos interstícios de um papel. Neste caso, a fase móvel move-se através da fase estacionária por capilaridade ou sob a influência da gravidade. Na cromatografia em coluna, a fase estacionária é mantida dentro de um tubo através do qual a fase móvel é forçada passar sob ação da gravidade ou pressão.⁽¹⁾

A classificação mais comum baseia-se no estado físico da fase móvel, sendo possível listar três categorias gerais de cromatografia: Cromatografia Líquida (CL), Cromatografia Gasosa (CG) e Cromatografia com Fluido Supercrítico (CFS).⁽¹⁾

A cromatografia líquida em coluna divide-se em dois grupos: a Cromatografia Líquida Clássica, feita em coluna de vidro, sob pressão atmosférica, com o fluxo da FM devido à força da gravidade e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) que usa colunas geralmente metálicas e pressões de FM elevadas, obtidas por uma bomba de alta pressão que impulsiona a FM com vazão mais rápida.⁽³⁾

1.3) Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A CLAE é a mais usada de todas as técnicas analíticas de separação.⁽¹⁾ As razões para a sua popularidade são a sua detectabilidade, fácil adaptação para determinações quantitativas exatas e sua adequação a separação de espécies não-voláteis ou termicamente instáveis.⁽¹⁾ A CLAE tem se mostrado também como sendo uma técnica muito promissora em áreas como monitoração ambiental, análises clínicas, farmacologia, oceanografia, agricultura e biotecnologia onde há uma grande necessidade de se detectar a presença de espécies e de obterem produtos com elevado teor de pureza.⁽⁵⁾

As fases estacionárias geralmente utilizadas em CLAE são constituídas por um suporte sólido, modificado ou não, sobre o qual é depositada uma fase líquida. Essa fase pode estar sorvida, auto-imobilizada, imobilizada ou quimicamente ligada ao suporte.

O suporte e a fase líquida são dois fatores decisivos no desenvolvimento de recheios de colunas para CLAE. Um suporte ideal para CLAE deve ter uma boa estabilidade mecânica, partículas esféricas, de tamanho pequeno, com baixa variação no tamanho, poros com geometria uniforme para uma rápida transferência de massa e uma superfície homogênea que permita a ligação física ou química da fase líquida. A fase estacionária deve ser quimicamente resistente e apresentar boa seletividade.⁽⁶⁾

1.4) Suportes e Fases Estacionárias Reversas

Na modalidade de CLAE em fase reversa (CLAE – FR) as fases utilizadas são constituídas por um suporte sólido, sobre o qual é depositada

uma fase líquida com caráter apolar. Como fase móvel são utilizados solventes com caráter polar, geralmente uma mistura de água e solventes orgânicos miscíveis com a água.⁽⁷⁾ Uma grande parte dos compostos orgânicos apresenta alta solubilidade na mistura água/solventes orgânicos, dessa forma, a popularidade das fases reversas explodiu no final da década de setenta⁽⁷⁾ e ainda continua a ser a modalidade mais utilizada em CLAE.⁽⁸⁾

Em CLAE-FR são utilizados como suportes, o carbono grafitizado e óxidos inorgânicos como sílica, alumina, titânia ou zircônia, sendo que a sílica também pode ser modificada com óxidos de titânio ou de zircônio. Dentre estes materiais o mais utilizado em recheios é a sílica.⁽⁹⁾

A sílica é disponível comercialmente em vários tamanhos, formas e graus de porosidade⁽³⁾, apresenta estabilidade mecânica a altas pressões⁽⁶⁾, resistência a uma ampla variedade de solventes e grande área superficial⁽¹⁰⁾. Entretanto, sua ampla utilização como suporte em CLAE é devida principalmente à possibilidade de modificar sua superfície com vários grupos funcionais ou camadas poliméricas através dos grupos silanóis.⁽³⁾

Existem várias formas de se obterem as camadas orgânicas apolares sobre a superfície dos diferentes óxidos. O método mais comum ocorre através da introdução de monocamadas orgânicas via reação com reagentes apropriados, produzindo as chamadas fases quimicamente ligadas. Outros envolvem o recobrimento superficial dos óxidos com polímeros orgânicos.⁽¹¹⁾

1.5) Fases Estacionárias Quimicamente Ligadas

Existem vários procedimentos descritos para a formação de uma fase quimicamente ligada sobre a superfície de óxidos. Dentre eles, os principais são:⁽¹¹⁾

- i) reação da sílica com álcoois com formação de silicatos de ésteres;
- ii) cloração seguida de reação com reagente de Grignard ou composto organolítio com formação da ligação silício-carbono;
- iii) reação da sílica ou óxidos metálicos com organossilanos (organossilanização) resultando em ligações M-O-Si, onde M pode ser Si, Al, Ti ou Zr:



O grupo X representa o grupo funcional reativo que usualmente é um cloreto ou um grupo alcóxido. Em fase reversa, R representa as cadeias C₈ ou C₁₈, que são as mais utilizadas, sendo que cadeias de C₂ a C₃₀ são também encontradas.⁽¹¹⁾

Dentro da CLAE-FR, a maioria das fases utilizadas atualmente são baseadas em silanos C₈ ou C₁₈ quimicamente ligados à superfície da sílica, entretanto, nas últimas décadas, recobrimentos de suportes óxidos com polímeros têm se tornado um método de grande importância na preparação de fases estacionárias.⁽¹²⁾

1.6) Fases Estacionárias com Polímeros Sorvidos, Auto-imobilizados ou Imobilizados sobre o Suporte.

O recobrimento de suportes óxidos com polímeros é feito através da deposição de uma camada polimérica sobre a superfície do suporte. Se não houver promoção da reticulação entre as cadeias do polímero e nem a ligação química entre o polímero e o suporte, pode-se dizer que o polímero está

sorvido nos poros do suporte (fase sorvida), com a contribuição de um ou mais tipos de interações como dipolo-dipolo, ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas entre as cadeias do polímero e o suporte.⁽¹¹⁾

Em nosso Laboratório de Pesquisas em Cromatografia Líquida (LabCrom) do Instituto de Química da UNICAMP, a sílica foi recoberta com poli(metiloctilsiloxano) (PMOS) gerando fases estacionárias sorvidas com propriedades similares às colunas comerciais recheadas com fases estacionárias contendo os mesmos grupos alquilas.⁽¹³⁾

Após o recobrimento do suporte, pode ser feita a imobilização do polímero nos poros do suporte a fim de se obterem camadas mais estáveis de polímero, insolúveis em fases móveis.

Em seu trabalho sobre sorção e imobilização de polissiloxanos em sílicas porosas, Bottoli⁽¹⁴⁾ observou que a retenção do PMOS nos poros da sílica aumentava com o tempo, sem a aplicação de tratamento específico, simplesmente deixando a fase estacionária em repouso após a sua preparação. Foi sugerido que com o tempo, ocorrem modificações ou rearranjos das cadeias do polímero nos poros da sílica, tornando a camada de PMOS não solúvel, ou seja imobilizada. Esse processo foi denominado auto-imobilização, pois não há necessidade de um agente externo indutor, como calor, peróxidos, radiação gama, etc.⁽¹⁴⁾

Nas fases estacionárias imobilizadas, existem ligações entre as moléculas individuais da fase líquida sorvida, induzidas por processos de entrecruzamento, sendo que podem existir ligações entre a fase líquida e o suporte.⁽¹⁴⁾ A imobilização é feita por reticulação (ligações cruzadas), induzidas por peróxido, tratamento térmico e radiação gama.⁽¹¹⁾

Bottoli et al.⁽¹²⁾ imobilizaram PMOS e PMODS em sílica nua através de tratamento térmico na ausência de agentes reticulantes. Para ambos os

polímeros, a imobilização na faixa de temperatura de 80 a 100 °C resultou em boas eficiências, comparáveis às das colunas comerciais.

Lopes et al.⁽¹⁵⁾ utilizaram a radiação gama para a imobilização de polibutadieno (PBD) em sílica. Foram testadas doses de radiação gama na faixa de 5 a 180 kGy, sendo que a menor dose aplicada, de 5 kGy, mostrou-se suficiente para a obtenção de fases estacionárias estáveis e muito eficientes.

As principais vantagens das fases com polímeros sobre as quimicamente ligadas são: maior recobrimento dos sítios ativos do suporte e a possibilidade de maior seletividade da fase estacionária devido à variedade imensa de polímeros orgânicos disponíveis.⁽¹¹⁾

1.7) A Sílica e sua Estrutura

A sílica usada em CLAE é porosa, amorfa e não-cristalina e possui água quimicamente ligada aos grupos silanóis $\text{Si}(\text{OH})_3$ da sua superfície em quantidades estequiométricas. Os grupos silanóis são de grande importância, pois através deles a superfície da sílica pode ser modificada com moléculas orgânicas originando as fases quimicamente ligadas usadas em cromatografia com fases reversas e outros modos de cromatografia.^(9,10)

A sílica apresenta três tipos de silanóis na sua superfície: isolados, geminais e vicinais, sendo que dois ou três silanóis vicinais podem apresentar-se ligados por pontes de H.^(9,16) Há também grupos siloxanos Si-O-Si com átomos de oxigênio na superfície (*Figura 1*).⁽¹⁶⁾ Na parte interna da estrutura da sílica encontram-se os silanóis internos, inacessíveis aos solutos.⁽⁹⁾

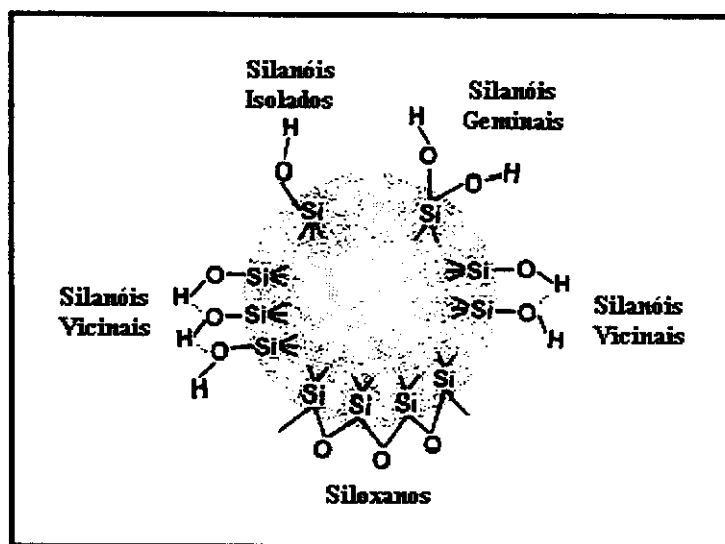


Figura 1 – Tipos de silanóis presentes na superfície da sílica.⁽¹⁶⁾

A concentração de grupos silanóis na superfície da sílica varia de 4,1 a 9,0 $\mu\text{mol m}^{-2}$, dependendo do método utilizado para a sua determinação.^(9,10) O valor mais aceito atualmente é de $8,0 \pm 1 \mu\text{mol m}^{-2}$.⁽⁹⁾

A utilização da sílica como suporte em cromatografia apresenta dois lados antagônicos. Se por um lado os silanóis desempenham um papel decisivo na preparação de fases estacionárias, por outro conferem algumas limitações sérias ao uso da sílica. Uma delas é a estabilidade hidrolítica limitada da sílica que restringe seu uso ao intervalo de pH de 2,0 a 8,0. Em valores de pH maiores que 8,0 a sílica se solubiliza lentamente, alterando a compactação da coluna, o que leva a mudanças na retenção do soluto e perda de eficiência.^(10, 17) O pH da fase móvel não pode ser menor que 2 no caso de fases quimicamente ligadas, pois ocorre a hidrólise das ligações siloxanos $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$ ou $\equiv\text{Si-C}$.^(6,17,18) Outra grande limitação ocorre na análise de compostos básicos, onde a interação destes compostos com os silanóis ácidos

causa picos assimétricos com caudas, possibilidade de retenção irreversível e baixa eficiência cromatográfica.^(9,11)

1.8) Suportes Alternativos a Sílica

Na tentativa de superar as limitações apresentadas pela sílica outros tipos de suportes têm sido empregados, como por exemplo, polímeros macroporosos, semi-rígidos como polimetacrilatos ou resinas de poliestireno⁽⁶⁾, copolímeros de estireno-divinilbenzeno ou vinil álcool.⁽¹⁰⁾ Em relação à sílica, estes materiais apresentam estabilidade numa ampla faixa de pH, porém com valores de eficiência menores.⁽¹⁹⁾ Além disso, eles apresentam baixa resistência às altas pressões empregadas em CLAE.⁽¹¹⁾

Outros materiais utilizados são óxidos inorgânicos como alumina, titânia e zircônia, os quais possuem as propriedades físicas desejadas da sílica e são resistentes à hidrólise numa ampla faixa de pH.⁽²⁰⁾

A alumina possui resistência mecânica comparável à sílica e resistência química maior, mas não é disponível comercialmente em uma grande variedade de forma, tamanho e grau de porosidade. É estável frente a fases móveis com pH acima de 12, entretanto em pH menores que 10, a alumina tem aplicação muito similar à sílica, apresentando inclusive, menor eficiência.⁽¹¹⁾

A zircônia é quimicamente estável em pH extremos e temperaturas elevadas, maiores que 200 °C quando recoberta com polibutadieno⁽⁸⁾, além de possuir alta resistência mecânica.⁽¹¹⁾ A zircônia tem na sua superfície átomos de zircônio com diferentes números de coordenação. Os sítios Zr(IV) têm número de coordenação quatro em vez de sete, por isso são classificados como

ácidos fortes de Lewis, podendo interagir com bases fortes de Lewis como fosfatos, hidróxidos e fluoretos, produzindo picos com caudas e favorecendo a adsorção irreversível.^(11,21)

A titânia tem atraído interesse no uso como suporte cromatográfico, pois tem as mesmas propriedades mecânicas e físicas da sílica com a vantagem de ter maior estabilidade química.⁽²²⁾ É um óxido metálico anfótero que pode ser utilizado como trocador aniônico em pH ácido e trocador catiônico em pH alcalino.⁽¹¹⁾ Seu uso rotineiro em CLAE ainda é escasso, pois a derivatização de sua superfície é limitada.⁽²³⁾

1.9) Sílica Modificada por Titânia ou Zircônia

Uma outra alternativa de substituição da sílica por outros materiais é fazer com que a superfície da própria sílica fique mais resistente às variações de pH. Isto pode ser alcançado através da modificação da sílica por reação química, adicionando a sua superfície óxidos de titânio ou zircônio, os quais são conhecidos por sua estabilidade química.

Recentes trabalhos no LabCrom envolveram a utilização de fases estacionárias baseadas em sílicas modificadas e imobilizadas por radiação gama. Collins e colaboradores modificaram a sílica com tetracloreto⁽²⁴⁾ e tetrabutóxido⁽²⁵⁾ de titânio dando origem ao novo suporte de sílica titanizada, posteriormente recoberto com PMOS. Os resultados indicaram que a sorção encontrada na sílica nua, isto é, a atração forte entre o polímero e a sua superfície, não é obtida com os suportes de sílica modificados com titânia e o polímero é lentamente lixiviado com a passagem da fase móvel.⁽¹¹⁾ Isso ocorre porque a modificação da sílica é feita através dos grupos silanóis diminuindo a

quantidade dos mesmos disponíveis para a sorção da fase líquida. Entretanto, quando o polímero foi imobilizado por radiação gama sobre a superfície da sílica titanizada, houve uma maior retenção do PMOS com aumento na eficiência cromatográfica.⁽²⁴⁾ Essas fases com sílica titanizada apresentaram também uma alta estabilidade frente à passagem de 10000 volumes de coluna de FM neutra (MeOH:H₂O, 70:30 (v/v)) e alcalina (MeOH:NaOH_(aq.), pH 9 e 12).^(25,26)

Em outro trabalho o PMOS foi imobilizado por radiação gama sobre suporte de sílica zirconizada, resultando numa fase altamente resistente a passagem de 5000 volumes de colunas de fases móveis neutras (MeOH:H₂O, 70:30 (v/v)) e alcalinas (tampão NH₄⁺ (0,03 mol L⁻¹)/NH₃ (0,17 mol L⁻¹), pH 10: MeOH (30:70 (v/v))).⁽²⁷⁾ As fases baseadas em sílica zirconizada apresentaram bom desempenho também na análise de compostos básicos.⁽²⁸⁾

Com exceção dos trabalhos citados, não foram encontradas na literatura outras referências que abordassem especificamente a utilização de sílica modificada por titânia ou zircônia como suporte em CLAE-FR.

Estes trabalhos abriram caminhos para pesquisas sobre o desenvolvimento de fases estacionárias utilizando sílica titanizada com outros polímeros, como o polibutadieno, e também a abordagem da variação da técnica de imobilização. Os principais métodos utilizados para a imobilização de fases líquidas são o tratamento térmico e a irradiação por raios gama. No LabCrom a radiação microondas, muito utilizada em química analítica, foi introduzida como um método alternativo de imobilização de fases. Kapor⁽²⁹⁾ utilizou a radiação microondas para a imobilização de PMOS em sílica nua, obtendo colunas com boa eficiência e potencialidade para serem utilizadas em análises de pesticidas.

1.10) Polibutadieno

Como citado anteriormente, nas últimas décadas recobrimentos de suportes óxidos com polímeros têm se tornado um método de grande importância na preparação de fases estacionárias.⁽¹²⁾ Entre os polímeros já utilizados estão o polietileno, polibutadieno, poliestireno, e os polissiloxanos como poli(metiloctilsiloxano) e poli(metiloctadecilsiloxano), além de outros; dentre estes, os mais comuns são os polissiloxanos. Entretanto, a utilização do polibutadieno tem sido evidenciada nos últimos anos, principalmente na preparação de fases estacionárias baseadas em zircônia.

O polibutadieno é um elastômero sintético obtido pela polimerização do monômero 1,3-butadieno. A polimerização de dienos pode ser feita através de polimerização aniônica, com alquil metais (como butil-lítio), ou através de complexos metálicos (catalisadores), como por exemplo, $\text{TiCl}_4/\text{R}_3\text{Al}$.⁽³⁰⁾

A polimerização do 1,3-butadieno resulta em uma cadeia polimérica com ligações 1,4 ou 1,2 de unidades monoméricas. No caso da ligação 1,4, a cadeia polimérica pode existir nas formas *cis* ou *trans*:

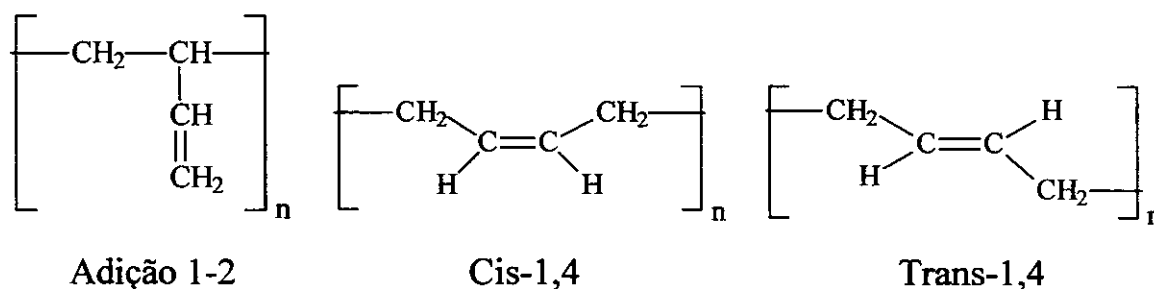


Figura 2 – Microestruturas do PBD.⁽³¹⁾

Na literatura é observado que a utilização do PBD como fase líquida suportada em zircônia tem sido bastante explorada. McNeff et al.⁽⁸⁾ compararam o desempenho de fases estacionárias com zircônia e PBD com as fases convencionais de sílica e C₁₈ na separação de uma série de antidepressivos tricíclicos. Os cromatogramas obtidos com a coluna de PBD mostraram picos mais simétricos e com eficiências superiores, além de menor tempo de análise. Neste mesmo trabalho, foi mostrado também que essas fases são capazes de aguentar exposição intensa a fases móveis básicas (pH 14) e temperaturas de até 200 °C.

Na ultima década, estudos com zircônia recoberta com polibutadieno têm sido feitos intensamente por Carr e colaboradores.⁽³²⁻³⁷⁾

Outros trabalhos enfocam o recobrimento de sílica com PBD. Hanson et al.⁽³⁸⁾ recobriram sílica porosa e não-porosa⁽³⁹⁾ com PBD utilizando o agente reticulante peróxido de dicumil (PDC). Um dos enfoques destes dois trabalhos foi investigar a forma como o PBD é depositado nos dois tipos de suportes. Através da combinação de vários métodos de análise físico-químicos como espectroscopia eletrônica de varredura e cromatografia, foram obtidas informações detalhadas a respeito da estrutura química e morfológica da camada polimérica de PBD que recobria a sílica porosa e a não porosa. Para a sílica não-porosa foi relatado que a espessura da camada de PBD aumentou proporcionalmente com o aumento da carga inicial de PBD. No caso da sílica porosa, o aumento da porcentagem de carga inicial de PBD levou a um maior preenchimento dos poros ao invés de um aumento na espessura da camada. O recobrimento da sílica porosa com PBD resultou então num filme de polímero não homogêneo, com a maior parte do PBD dentro dos poros da sílica.

1.11) Radiação Microondas

O uso de radiação microondas em química analítica já é conhecido desde a década de 70, sendo que entre as aplicações mais importantes pode-se citar a digestão de amostras para análise elementar, a extração de diversas substâncias e a dessorção térmica de vários compostos.⁽⁴⁰⁾

A radiação microondas possui uma frequência que vai de 30 GHz a 300 MHz e que corresponde a comprimentos de onda de 1 mm a 1 m. A região das microondas situa-se entre a região de infravermelho e ondas de rádio no espectro eletromagnético.⁽⁴¹⁾ Em fornos domésticos, geralmente é utilizada a frequência 2450 MHz.⁽⁴²⁾

O aquecimento por microondas é completamente diferente daquele que ocorre em um forno convencional, que se dá por condução, irradiação e convecção.⁽⁴⁰⁾ Quando uma amostra é aquecida numa chapa de aquecimento, ocorre um processo de convecção, onde há transferência do calor da chapa para o frasco, onde está a amostra, e do frasco para a amostra, o qual se pode considerar um método ineficiente de aquecimento.⁽⁴¹⁾ O aquecimento por microondas é também chamado de aquecimento dielétrico, e existem dois mecanismos principais para a transformação de energia eletromagnética em calor. O primeiro deles é chamado de rotação dipolar e relaciona-se com o alinhamento das moléculas, que têm dipolos permanentes ou induzidos com o campo elétrico aplicado (*Figura 3A*).⁽⁴⁰⁾ Quando o campo é removido, as moléculas voltam a um estado desordenado (*Figura 3B*) e a energia que foi absorvida para esta orientação nestes dipolos é dissipada na forma de calor. Como o campo elétrico na frequência de 2450 MHz oscila, ou seja, muda de sinal $4,9 \times 10^9$ vezes por segundo, ocorre um aquecimento imediato destas

moléculas.⁽⁴⁰⁾ A *Figura 3* mostra uma representação esquemática desta situação, utilizando-se a molécula de água como exemplo.

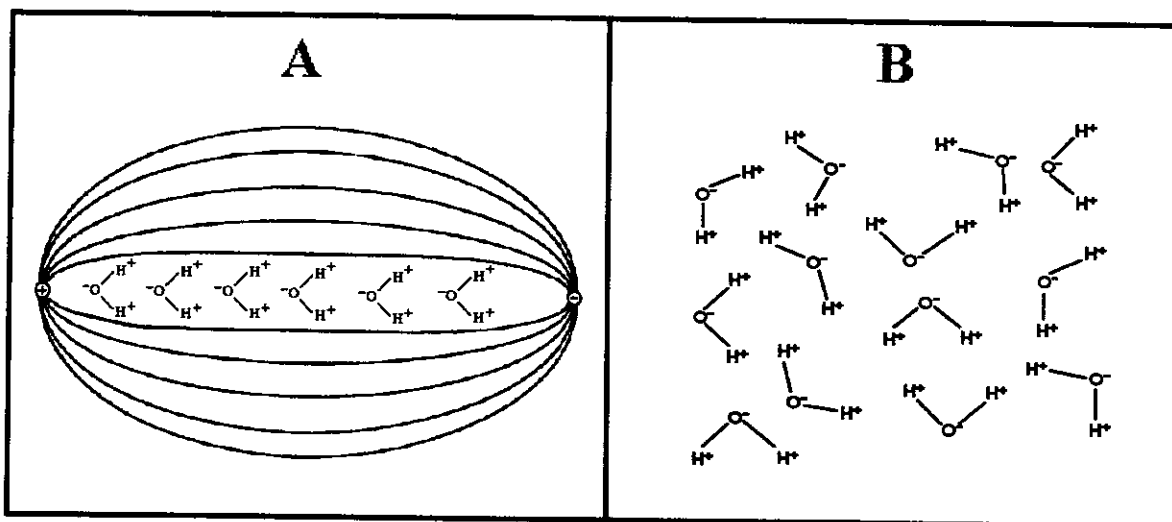


Figura 3 – Esquema da resposta de uma molécula a um campo eletromagnético aplicado: (A) Moléculas de H₂O polarizadas alinhadas com os pólos do campo eletromagnético; (B) Desordem termicamente induzida pela remoção do campo eletromagnético.⁽⁴²⁾

Em geral, substâncias polares (água, acetonitrila, etanol) possuem alta capacidade em absorver a radiação microondas, enquanto que substâncias menos polares, hidrocarbonetos alifáticos ou aromáticos ou substâncias com momento de dipolo nulo como CCl₄ e CO₂, absorvem as microondas fracamente.⁽⁴⁰⁾

Um mecanismo secundário, porém não menos importante, é a chamada condução iônica. Quando um campo eletromagnético é aplicado, ocorre a migração dos íons dissolvidos em um determinado solvente, o que gera calor. Todos os íons da solução contribuem para o processo de condução, mas a fração de corrente carregada por uma dada espécie é determinada pela sua concentração relativa e sua mobilidade no meio.⁽⁴²⁾

Um aparelho de microondas típico, utilizado no aquecimento de amostras consiste de seis componentes: o gerador de microondas magnetron, o guia de ondas, a cavidade das microondas, o agitador, para espalhar as ondas (*Figura 4*), um circulador e um exaustor de ar. As microondas são produzidas pelo magnetron, propagadas através do guia de ondas e inseridas diretamente dentro da cavidade do forno onde o espalhador as distribui em diferentes direções sendo, então, absorvidas pelas moléculas de amostras e solventes.⁽⁴²⁾

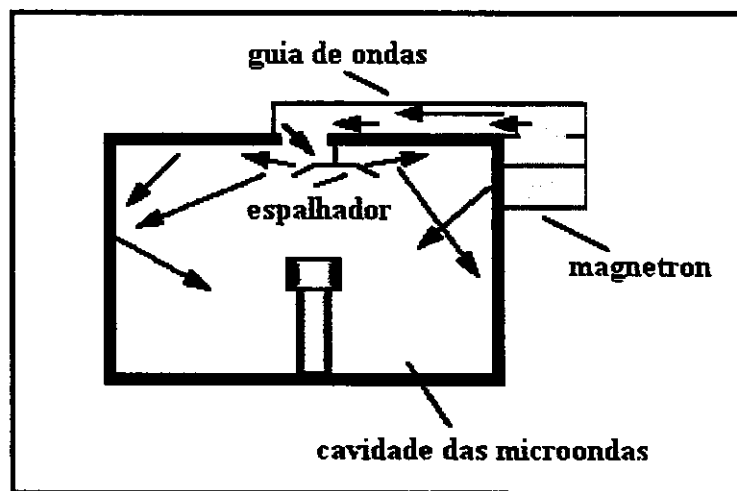


Figura 4 – Esquema de um forno de microondas convencional.⁽⁴²⁾

1.12) Avaliação de Colunas Cromatográficas

As colunas cromatográficas são avaliadas através da análise de parâmetros calculados a partir de medidas obtidas nos cromatogramas.

A *Figura 5* mostra um cromatograma típico obtido na separação de uma mistura de dois componentes.

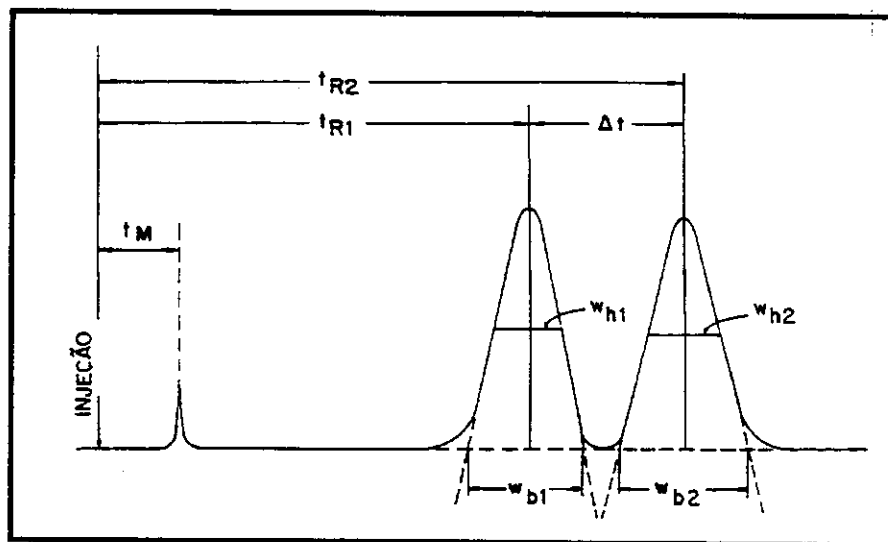


Figura 5 – Cromatograma com as medidas relacionadas à determinação dos parâmetros cromatográficos.⁽³⁾

Tempo de retenção do soluto (t_R) é o tempo gasto desde o momento da injeção do soluto até a detecção do máximo do pico correspondente.

Tempo de retenção de um componente não retido pela fase estacionária (t_M) é o tempo gasto por um composto não retido pela fase estacionária para percorrer o sistema cromatográfico desde a injeção até a chegada no detector.
⁽⁴³⁾ Normalmente é obtido pelo tempo gasto pela fase móvel, na qual está diluída a amostra, que passa pela coluna e conexões.

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

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

Fator de retenção (k) é calculado pela razão entre os tempos em que o soluto fica retido na fase estacionária e na fase móvel sendo determinado pela *Equação 3:*⁽⁴⁴⁾

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (3)$$

Os valores ideais para k variam de 2,0 a 10,0. Valores menores que 2,0 indicam pouca interação entre o soluto e a fase estacionária, enquanto valores maiores que 10 indicam interação muito forte com a fase estacionária, resultando em análises demoradas.^(2,17)

Resolução entre picos (R_S) é o parâmetro que indica se ocorreu ou não uma boa separação entre dois picos adjacentes e pode ser calculada pela *Equação 4:*⁽⁴⁴⁾

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

onde:

t_{R1} e t_{R2} = tempos de retenção de dois picos adjacentes envolvidos no cálculo;

w_{b1} e w_{b2} = largura dos picos na base, em unidades de tempo;

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

Valores de R_S acima de 1,5 são considerados ideais, indicando uma boa separação entre os picos.

Número de pratos (N) é o parâmetro relacionado à eficiência cromatográfica. Um prato equivale a uma etapa de equilíbrio do soluto entre a fase estacionária e a fase móvel. Quanto maior o número de pratos, mais equilíbrios existirão, maior será a eficiência e, portanto, melhor a separação. Na prática, o número de pratos é uma medida do alargamento do pico que ocorre quando o analito passa através do sistema e pode ser calculado pela *Equação 5*.⁽³⁾

$$N = 5,545 \left(\frac{t_R}{w_h} \right)^2 \quad (5)$$

Como existem colunas com diferentes tamanhos, para poder compará-las é usual expressar a eficiência em pratos por metro (N/m):

$$N/m = \frac{N}{L} \quad (6)$$

onde: L = comprimento da coluna, em metros

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

A expressão demonstrada para o cálculo de número de pratos, ou seja, a eficiência descrita na *Equação 5*, é válida para picos simétricos. Para picos assimétricos, existem erros no cálculo de N se a *Equação 5* for utilizada. Por essa razão deve-se calcular o fator de assimetria (As) do pico a 10% de sua altura.

Fator de assimetria do pico a 10 % da sua altura (As_{10}) é a medida da proporção entre as duas partes de um pico cromatográfico no sentido horizontal a 10 % da sua altura. A literatura indica que As_{10} deve ter valores de 0,9 a 1,2.⁽⁴⁵⁾ Embora menos desejáveis, valores até 1,6 são admitidos.⁽⁴⁶⁾

Outra maneira de definir a forma de um pico é através do fator de alargamento a 5 % da sua altura (Tf , do inglês “*Tailing Factor*”). Nesta abordagem a assimetria é medida a 5 % da altura do pico.⁽⁴⁷⁾ O valor ideal de Tf seria 1,0, indicando que o pico cromatográfico é totalmente simétrico.

A *Figura 6* mostra como é calculada a assimetria utilizando as duas maneiras:

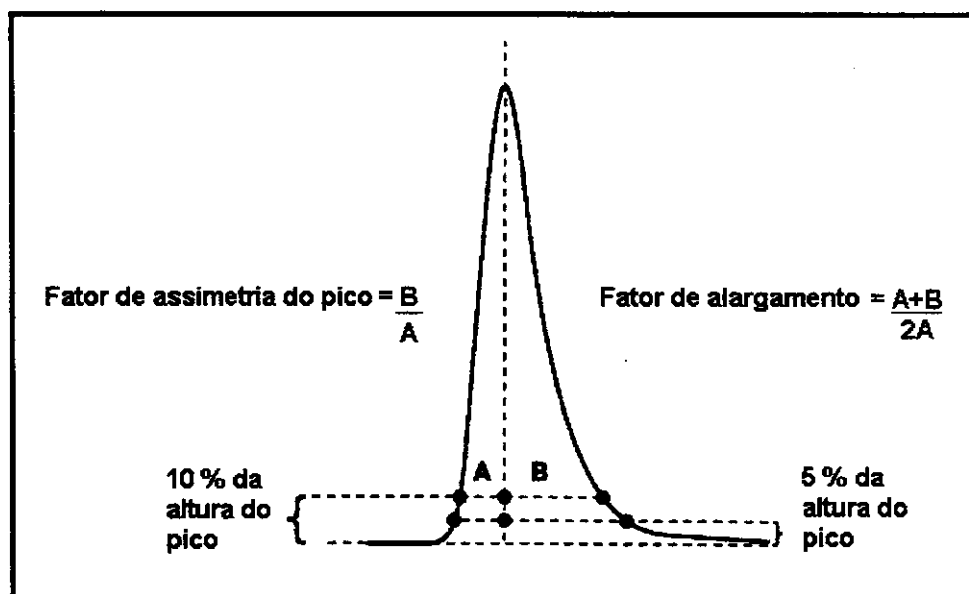


Figura 6 – Determinação da assimetria e fator de alargamento do pico.⁽⁴⁷⁾

A avaliação comparativa entre colunas também pode ser feita usando a medida da altura de prato (H):⁽³⁾

$$H = \frac{L}{N} \quad (7)$$

A eficiência de uma coluna também pode ser expressa através da equação clássica de van Deemter, em função da altura de prato (H):

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

onde: μ = velocidade linear da fase móvel, obtida pela *Equação 9*:

$$\mu = \frac{L}{t_M} \quad (9)$$

O termo A, da *Equação 8*, é a difusão turbilhonar responsável pelo alargamento dos picos devido aos diferentes caminhos percorridos pelas moléculas do soluto no interior da coluna cromatográfica. Uma forma de minimizar este efeito é utilizar colunas de diâmetro interno reduzido e partículas pequenas e uniformes.⁽⁴⁴⁾

O termo B, difusão longitudinal, está relacionado com a difusão molecular do soluto na FM e pode ser minimizado empregando-se altas velocidades lineares de fase móvel.⁽⁵⁾

O termo C equivale à transferência de massa, e corresponde ao alargamento da banda devido à dificuldade de transferência de massa do soluto entre a FM e a FE. O termo C está subdividido em C_M e C_S , onde C_M é a transferência de massa na FM e C_S , a transferência de massa na FE. Para minimizar o termo C, o ideal é que a espessura da fase estacionária que recobre o suporte seja a menor possível.⁽⁵⁾

O gráfico de H vs μ fornece uma curva como a da *Figura 7* que é conhecida como curva de van Deemter. A curva de van Deemter mostra que existe uma vazão ótima, que está diretamente relacionada com a velocidade linear ótima ($\mu_{\text{ótima}}$), na qual H terá um valor mínimo e corresponde ao valor máximo de eficiência da coluna. Na prática, esta é a maneira de selecionar a vazão ótima de uma corrida cromatográfica.

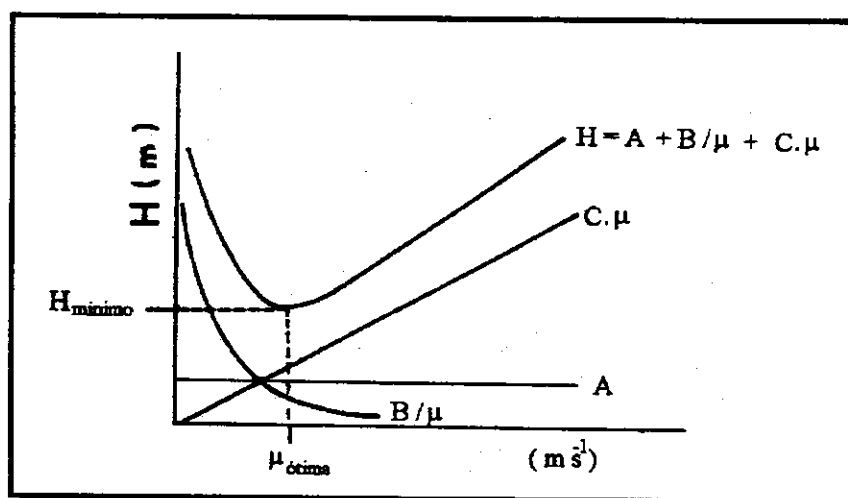


Figura 7 – Curva de van Deemter hipotética mostrando a relação entre eficiência e velocidade linear média da fase móvel.⁽⁵⁾

2) OBJETIVOS

A finalidade deste trabalho foi o desenvolvimento de uma nova fase estacionária baseada na imobilização por radiação microondas do polibutadieno (PBD) sobre a sílica modificada com óxido de titânio, com eficiência cromatográfica semelhante a das fases estacionárias disponíveis comercialmente e maior estabilidade às fases móveis alcalinas. Para atingir tal objetivo foram delineadas as seguintes etapas:

- Desenvolver um procedimento eficiente e reprodutível de modificação da superfície da sílica com óxido de titânio.
- Desenvolver um procedimento de preparação de fases estacionárias auto-imobilizadas de polibutadieno sobre a sílica titanizada capaz de gerar colunas com alta eficiência, boa assimetria e desempenho cromatográfico.
- Desenvolver um procedimento de imobilização por radiação microondas das fases auto-imobilizadas, resultando em fases estacionárias imobilizadas. Nesta etapa foram estudadas as condições de imobilização, tais como tempo e potência da irradiação por microondas.
- Caracterizar as melhores fases estacionárias auto-imobilizadas e imobilizadas, química, física e cromatograficamente.
- Determinar a estabilidade química das fases estacionárias auto-imobilizadas e imobilizadas frente a fases móveis neutras e alcalinas.

3) PARTE EXPERIMENTAL

3.1) Materiais

3.1.1) Reagentes e Solventes

- Acetona p.a., Merck
- Ácido nítrico p.a., Synth
- Água deionizada, sistema Milli-Q, Millipore
- Benzonitrila, Riedel-de Haen
- Benzeno p.a., Synth
- Clorofórmio p.a, Merck
- Fenol p.a., Ecibra
- Hexano, Tedia, grau cromatográfico
- Isopropanol p.a., Tedia
- Metanol , Tedia, grau cromatográfico
- Naftaleno p.a., Vetec Química Fina
- n-Butanol, Planta Piloto
- n-Butanol p.a., Vetec Química Fina
- N, N-dimetilanilina p.a., Quimex
- Óxido de titânio p.a., Aldrich
- Peneira molecular de 3Å, Alfa Inorganics Ventron
- Tetrabutóxido de titânio p.a., Aldrich
- Tolueno p.a., Merck
- Uracil, 98%, Aldrich

3.1.2) Sílica e Fase Líquida

- **Sílica Lichrospher Si 100 (Merck) com as seguintes características:**

- tamanho de partículas: 5 μm
- forma das partículas: esférica

- **Fase líquida: Polibutadieno – PBD (Aldrich)**

- Composição: 20% de adição 1-2, 80% cis- e trans-1,4
- Massa molar média (M_n): 5000 daltons
- Densidade: 0,89 g mL⁻¹

3.1.3) Coluna Cromatográfica

As colunas foram confeccionadas na oficina mecânica da UNICAMP, a partir de tubos de aço inoxidável 316 L, sem costura, tendo as seguintes dimensões: 60 mm de comprimento e diâmetro interno de 3,9 mm. O comprimento da coluna afeta a eficiência e a velocidade de separação. Colunas maiores resultam em tempos de análises mais longos, em contrapartida, a eficiência tende a aumentar.⁽⁵⁾ Neste trabalho foram utilizadas colunas com comprimento menor do que o usual, 100 a 250 mm, porém sem afetar a separação cromatográfica para que os materiais disponíveis, sílica e polímero fossem suficientes para a preparação de inúmeras fases estacionárias.

Para o polimento da superfície interna da coluna, utilizou-se a técnica desenvolvida no LabCrom⁽⁴⁸⁾, que consiste em fixar numa furadeira um fio de aço envolto com uma esponja de lã de aço e pasta de polimento

(Carborundum, n° 360F). O diâmetro interno da coluna influencia a capacidade de aceitação de amostra, a vazão e o alargamento dos picos cromatográficos. Quanto maior o diâmetro interno, maior a capacidade de aceitação da amostra e maior a vazão a ser utilizada. Entretanto, o alargamento da banda aumenta com o diâmetro interno.⁽⁵⁾ Dessa forma, o polimento não pode ser muito intenso para evitar diferentes alargamentos do diâmetro interno da coluna, por isso ele foi interrompido assim que não havia mais imperfeições visíveis na superfície interna das paredes da coluna. Após o polimento, os tubos foram deixados em ácido nítrico 50% (v/v) por 24 horas e lavados com detergente, água e metanol.

3.2) Equipamentos

- Agitador magnético Corning Glass Works, modelo PC-351
- Agitador Roto Torque Cole-Parmer Instruments Company, modelo 7637-10.
- Agitador vórtex Phoenix, modelo AP 56.
- Analisador elementar Perkin Elmer, modelo CHN-2400.
- Analisador termogravimétrico, TA Instruments, modelo TGA – 2050.
- Balança analítica, Fischer Scientific (sensibilidade de 0,0001 g), modelo A-250.
- Bomba de enchimento de colunas Alltech, com faixa de pressão de 6,9 a 60 MPa (1000 – 10000 psi), modelo 1666 Slurry Packer.
- Bomba de enchimento de colunas Haskel, com faixa de pressão de 6,9 a 207,0 MPa (1000 – 30000 psi), modelo N° 51769.
- Espectrofotômetro infravermelho Perkin Elmer, modelo FT-IR 1600.
- Espectrofotômetro infravermelho Bomem Hartman & Braun, modelo MB.

- Espectrômetro de absorção de raios – X duro com luz Síncrotron (DB-04), faixa de energia 2,5 – 24 keV do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS)
- Espectrômetro de raios-X de energia dispersiva Shimadzu, modelo EDX-700, fonte ródio.
- Forno de microondas doméstico com prato giratório Electrolux, frequência de 2450 MHz e potência de saída de 900 W, modelo ME27.
- Frascos cilíndricos de politetrafluoroetileno (Teflon), com 100 mm de altura e 50 mm diâmetro interno, confeccionados na oficina de mecânica fina do Instituto de Química da UNICAMP.
- Sistema Milli-Q Plus, Millipore.
- Sistema de ultra-som Thornton, modelos T14 e T50.
- Cromatógrafo a líquido Waters composto por:
 - Bomba de alta pressão, tipo recíproca de pistão duplo, Waters, modelo 486;
 - Detector espectrofotométrico de absorção no UV/Vis, de comprimento de onda variável entre 190 e 600 nm, cela de 8 μ L de volume, 10 nm de caminho ótico, Waters, modelo 486;
 - Injetor Rheodyne, com alça de amostragem de 10 μ L, modelo 7725i;
 - Sistema de aquisição de dados: Microcomputador, com software de aquisição de dados cromatográficos Chrom Perfect.
- Cromatógrafo a líquido, Shimadzu, composto por:
 - Bomba de alta pressão, tipo recíproca de pistão duplo, modelo LC-10AD;

- Detector espectrofotométrico de absorção no UV/Vis, de comprimento de onda variável entre 190 e 900 nm, cela de 8 μ L de volume, 10 nm de caminho ótico, modelo SPD-10A;
- Auto injetor, amostragem programada de 10 μ L, modelo SIL-10AD;
- Sistema de aquisição de dados: microcomputador, com software de aquisição de dados cromatográficos Class VP;
- Forno para coluna, modelo CTO-10AS;
- Controlador de sistema SCL-10A

3.3) Síntese da Sílica Titanizada (Suporte Cromatográfico)

A síntese da sílica titanizada pode ser dividida em duas etapas.⁽⁴⁹⁾ A primeira etapa consistiu na ligação do reagente tetrabutóxido de titânio à sílica.

Em um tubo de ensaio com rosca de vedação, colocaram-se 5 g de sílica e 16,8 mmol de uma solução de tetrabutóxido de titânio em 15 mL de butanol previamente seco em peneira molecular de 3Å. Essa mistura foi agitada em agitador vórtex até a sua homogeneidade e depois foi transferida para um banho ultra-sônico por 10 minutos, com o objetivo de eliminar bolhas de ar. A seguir, o tubo contendo a mistura foi deixado em um banho termostático a temperatura de 40 °C por 6 horas. Durante este tempo de reação o tubo foi retirado por três vezes para agitação no vórtex e no banho ultra-sônico por 10 minutos.

Após o período no banho termostático, a sílica titanizada não hidrolisada, foi centrifugada e o sobrenadante foi descartado. Adicionaram-se então 15 mL de butanol, a mistura foi agitada no vórtex até a sua homogeneidade, foi deixada no ultra-som por 3 minutos e então centrifugada

até deposição completa do material. Esta sequência de etapas foi repetida por quatro vezes, com o objetivo de eliminar todo o reagente tetrabutóxido de titânio que não reagiu durante as 6 horas de reação.

A segunda etapa da preparação da sílica titanizada consistiu na hidrólise do material para eliminação dos íons tetrabutóxido da superfície.

Evaporou-se o butanol com ar comprimido e adicionaram-se 20 mL de ácido nítrico $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com agitação no vórtex e ultra-som por 3 min. Deixou-se a mistura com ácido em repouso por 15 minutos, centrifugou-se e removeu-se o sobrenadante.

Iniciou-se a lavagem do material com água, agitação no vórtex e centrifugação.

A sílica titanizada foi então deixada em repouso por 12 horas para eliminação do excesso de água e depois seca na estufa por uma hora na temperatura de 110°C . Este material será identificado como SiTi.

3.4) Preparação da Fase Estacionária

Foram feitas uma solução de PBD e uma suspensão de sílica titanizada não ativada em hexano, na proporção de 12 mL de hexano para cada 1g de material. A solução de PBD foi então agitada em agitador magnético por 10 min e tanto ela quanto a suspensão de sílica titanizada foram deixadas em banho ultra-sônico por 10 minutos. Adicionou-se a solução polimérica lentamente ao suporte de sílica titanizada. Essa mistura foi agitada, colocada em banho ultra-sônico por mais 10 min e depois mantida sob agitação magnética durante 3 horas. A seguir o frasco foi deixado na capela para evaporação do hexano, obtendo-se a fase estacionária sorvida, que

permaneceu em repouso a temperatura ambiente por seis dias a fim de assegurar uma auto-imobilização efetiva da fase líquida no suporte.⁽¹⁵⁾

Foi preparado um lote de fase estacionária utilizando a sílica titanizada ativada, ou seja, aquecida em estufa à temperatura de 120 °C por 24 horas para eliminação da água fisicamente adsorvida.

Para a otimização da porcentagem de carga, foram preparadas fases auto-imobilizadas com cargas de 40, 50 e 60% (m/m) de PBD em relação à quantidade total de fase estacionária preparada. Após a otimização, todas as fases foram preparadas com carga de 40% de PBD (m/m).

3.5) Calibração do Forno de Microondas.

A calibração do forno de microondas foi feita para verificar se existe uma relação linear entre os valores de unidades arbitrárias do equipamento e a potência absorvida e para determinar a potência real.⁽⁵⁰⁾

Em um béquer de vidro foram adicionados 1000 mL de água deionizada, mediu-se a temperatura da água e colocou-se o béquer no forno de microondas em 20% da potência máxima, por 120 s. Após este período mediu-se a temperatura da água durante os 30 s que seguiram o término do aquecimento.⁽⁴²⁾

Este procedimento foi repetido para os níveis de 40, 60, 80 e 100% da potência máxima, sendo que a água aquecida foi sempre substituída por água à temperatura ambiente.

3.6) Irradiação das Fases Estacionárias

Durante o decorrer deste trabalho, o procedimento de irradiação das fases sofreu algumas modificações na tentativa de encontrar as melhores condições de imobilização, dessa forma, para maior clareza, este item foi dividido em diversos sub itens.

3.6.1) 1º Estudo: Variação de Potência e Tempo

Inicialmente foram testadas quatro combinações de potência e tempo de irradiação no microondas, escolhidas com base no trabalho de Kapor.⁽²⁹⁾

Em um frasco de Teflon (altura 100 mm, diâmetro interno 50 mm) foi adicionada uma quantidade de fase estacionária auto-imobilizada suficiente para o enchimento de uma coluna e irradiada a uma determinada potência e tempo. Os fornos de microondas domésticos não apresentam o componente espalhador, que distribui as microondas em diversas direções dentro do forno⁽⁵¹⁾, por isso a intensidade da radiação dentro de um forno doméstico é variável e alguns pontos são mais aquecidos que outros.⁽⁵²⁾ Dessa forma, durante as irradiações, o frasco foi colocado sempre na borda do prato giratório, onde há maior incidência das microondas.⁽⁵³⁾

3.6.2) 2º Estudo: Variação do Tempo com Potência 586 W

Neste estudo, a potência foi fixada em 586 W e o tempo de irradiação variado de 30 a 600 s. A irradiação das fases foi feita como descrito em 3.6.1.

3.6.3) 3º Estudo: Variação do Tempo com Potência 51 W

Neste estudo, o tratamento no microondas foi interrompido a cada 180 segundos de irradiação, procedimento este que se denominou de intervalo de imobilização, quando então a fase estacionária foi homogeneizada com uma espátula por 120 segundos, denominada de intervalo de resfriamento ou etapa de resfriamento. Este procedimento foi repetido até o final do tempo de irradiação de cada fase. Dessa forma, por exemplo, uma fase irradiada por 1800 s foi resfriada por 1200 s. A potência foi fixada em 51 W e variou-se o tempo de 900 a 3000 s.

3.6.4) 4º Estudo: Variação da Potência com Tempo de 1800 s

O tempo foi fixado em 1800 s e a potência foi variada de 386 a 653 W. Neste caso, o intervalo de imobilização foi de 120 s e a etapa de resfriamento também de 120 s.

3.6.5) 5º Estudo: Variação do Tempo de Imobilização

A potência e o intervalo de imobilização foram fixados em 586 W e 120 s, e o tempo de imobilização foi variado de 1200 a 2400 s.

3.6.6) 6º Estudo: Variação do Intervalo de Imobilização

A potência e o tempo foram fixados em 586 W e 1800 s, enquanto o intervalo de imobilização foi variado de 60 a 180 s.

3.7) Extração com Solventes

A extração com solventes foi feita para se eliminar o excesso de PBD das fases, pois um excesso de polímero sorvido no suporte pode comprometer a eficiência das fases estacionárias, devido a uma menor velocidade de transferência de massa do soluto entre a FE e a FM.

A extração foi realizada utilizando-se uma bomba de alta pressão, tipo recíproca de pistão duplo, Waters modelo 486, e clorofórmio seguido de metanol. Estes solventes foram bombeados, a uma vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, através da fase contida em um tubo de aço inóx (comprimento 80 mm, diâmetro interno 13 mm) por 3 horas com cada solvente.⁽¹⁵⁾

3.8) Enchimento de Coluna

3.8.1) Preparação da Suspensão

A preparação da suspensão da fase estacionária é feita em um solvente adequado denominado de solvente de suspensão, o qual possui duas funções: impedir a aglomeração e a sedimentação das partículas da fase estacionária.⁽⁵⁴⁾

A concentração da suspensão utilizada para o enchimento da coluna foi de 10% (m/v). Dessa forma, de acordo com o volume da coluna, uma quantidade adequada de fase estacionária dissolvida em clorofórmio, solvente de suspensão, foi colocada num tubo com rosca de vedação. A mistura foi mantida sob agitação no roto-torque por 16 horas, quando então foi utilizada para o recheio das colunas.⁽⁵⁵⁾

3.8.2) Procedimento para o Enchimento das Colunas

O sistema utilizado no enchimento de colunas está mostrado esquematicamente na *Figura 8*.

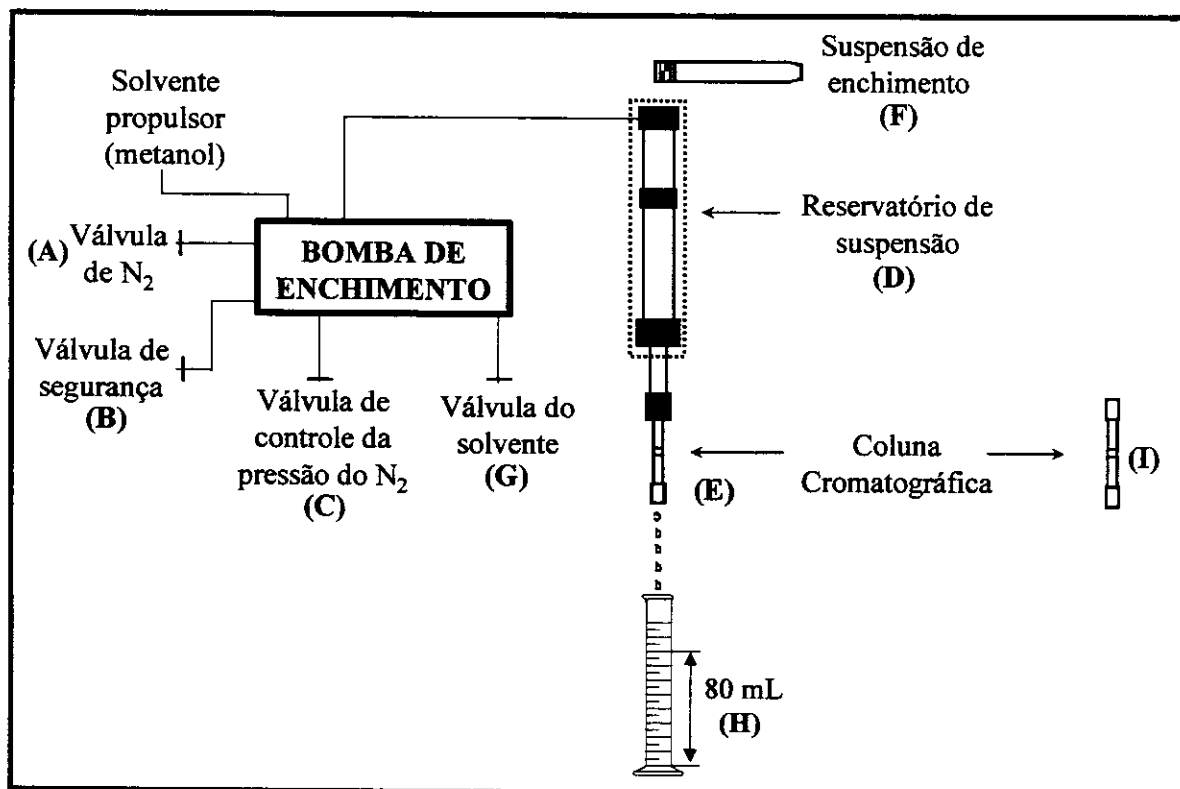


Figura 8 – Representação esquemática do sistema de enchimento de colunas.

O procedimento consistiu das seguintes etapas:

- Inicialmente, abriu-se a válvula do cilindro de nitrogênio (A) e a válvula de segurança (B);
- Abriu-se a válvula de controle de pressão do gás (C) até obter a pressão desejada: 5000 psi (bomba Haskel) e 6500 psi (bomba Alltech);

- Conectou-se na parte inferior do reservatório de suspensão (D) a coluna (E) que possuía um filtro poroso e as peças terminais em sua extremidade oposta, para evitar a perda da fase estacionária;
- Transferiu-se a suspensão de fase estacionária (F) para o reservatório, completou-se o volume com clorofórmio e imediatamente fechou-se a entrada superior do reservatório;
- Abriu-se a válvula do solvente (G) e deixaram-se passar 80 mL do solvente propulsor (metanol), que foi recolhido em uma proveta (H) colocada abaixo da saída da coluna;
- Após a passagem destes 80 mL, fechou-se a válvula do solvente e aguardou-se 20 minutos para compactação do leito da coluna e melhor assentamento da fase estacionária;
- Desconectou-se a coluna do reservatório e na extremidade da coluna que estava ligada ao reservatório, adaptaram-se os acessórios da coluna (reductor, filtro e terminal) (I);
- Fechou-se em sequência a válvula de controle de pressão do gás (C), a válvula de segurança (B) e depois a do nitrogênio (A).

3.9) Preparação da Fase Móvel

Inicialmente todos os solventes utilizados na preparação da fase móvel foram filtrados em uma membrana GV (Durapore), 0,22 μm de poro, 47 mm de diâmetro, hidrofílica (GVWP04700 – Millipore) para eliminar as impurezas sólidas. Os volumes dos solventes que compõem a fase móvel foram medidos individualmente e a seguir misturados. Após a preparação e também

rotineiramente antes da sua utilização, as fases móveis foram desgaseificadas em ultra-som por 30 minutos.

Para os testes realizados, foram preparadas fases móveis com metanol e água nas proporções 70:30 e 60:40 v/v. A fase móvel básica foi preparada com metanol e água na proporção de 60:40 v/v com o pH da água ajustado a 9,0, com $\text{NaOH}_{(\text{aq.})}$.

3.10) Condicionamento das Colunas

Após o enchimento da coluna, é necessário que ela seja condicionada com a fase móvel que vai ser empregada na análise, para retirar o metanol utilizado durante o enchimento e para que haja um equilíbrio entre a fase estacionária e a fase móvel. O condicionamento foi feito a uma vazão de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$, por um período de três horas.⁽⁵⁵⁾

3.11) Caracterização Física do Suporte e das Fases Estacionárias

3.11.1) Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva

O teor de titânio incorporado à superfície da sílica foi determinado através da fluorescência de raios-X. A curva analítica foi obtida a partir de seis misturas da sílica nua utilizada neste trabalho com óxido de titânio. Foram feitos padrões com concentrações de titânio variando de 1,0 a 10,0 % (m/m).

3.11.2) Espectroscopia no Infravermelho

Foram obtidos espectros de absorção no infravermelho da sílica nua e titanizada, do polímero PBD e também de algumas fases estacionárias auto-imobilizadas e immobilizadas por radiação microondas. No caso do PBD, o espectro foi obtido a partir de um filme da amostra em cela de cloreto de sódio. Para as fases estacionárias sólidas, os espectros foram obtidos no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} após a prensagem da amostra, sob a forma de pastilhas, com brometo de potássio.

3.11.3) Análise Termogravimétrica

Os termogramas foram obtidos utilizando 10 mg de amostra e velocidade de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ no intervalo de 25 a 1000 $^{\circ}\text{C}$. As análises foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio. As impressões dos termogramas foram obtidas em porcentagem de perda de massa e a curva foi derivada em função da temperatura.

3.11.4) Medida de Área Superficial Específica

Para essa medida empregou-se o método BET, que se baseia na determinação do volume de nitrogênio adsorvido a diferentes pressões na temperatura do nitrogênio líquido. O resultado é expresso em $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$. Esta medida foi feita para a sílica nua, titanizada e fases auto-imobilizadas e immobilizadas por radiação microondas.

3.11.5) Medida do Diâmetro Médio (Dp) e Volume Específico (Vp) dos Poros

O volume de poro total foi avaliado pela conversão do volume de nitrogênio adsorvido para o volume do adsorbato líquido. O diâmetro de poro foi determinado a partir do volume total de poro e da área de superfície BET. Esta medida foi feita para a sílica nua e titanizada.

3.11.6) Espectroscopia de Absorção de Raios-X Duros (XAS) com Luz Síncrotron

Esta análise foi realizada no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), localizado em Campinas/SP.

Em um béquer foram adicionados 20 mg da amostra de sílica titanizada e 5 mL de álcool isopropílico. Essa suspensão foi deixada em banho ultrassônico por 5 minutos para eliminação de bolhas de ar. Após o banho ultrassônico, a mistura foi filtrada a vácuo em uma membrana porosa de celulose com adição de 15 mL de isopropanol, para que se formasse uma camada fina de sílica titanizada sobre a membrana porosa. Após a filtração, a membrana porosa contendo a amostra foi colocada em suporte próprio e analisada no espectrômetro de absorção de raios – X duros (XAS) com luz Síncrotron (DB-04).

Os espectros obtidos são divididos em duas regiões, XANES e EXAFS que fornecem informações como geometria e número de coordenação do titânio e valores de distância da ligação Ti-O. Os dados do EXAFS foram extraídos e tratados com o programa WINXAS, versão 2.33.

3.12) Caracterização Química da Sílica Nua, Sílica Titanizada e das Fases Estacionárias

3.12.1) Análise Elementar de Carbono

Esta determinação foi feita através de combustão, onde o carbono é convertido a gás carbônico (CO_2) e medido em função de sua condutividade térmica. O teor de resíduo de carbono foi determinado para as seguintes amostras: sílica nua e titanizada, polímero PBD e algumas fases estacionárias auto-imobilizadas e imobilizadas após o recheio e desempacotamento das colunas.

3.12.2) Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS)

A análise da sílica por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) foi realizada pesando 1,0000 g de sílica em cadinho de Teflon. Em seguida, a sílica foi fluorizada, à quente, utilizando-se ácido nítrico 1:1 e ácido fluorídrico 40 %. A solução foi levada à secura e a amostra retomada em ácido clorídrico à quente e avolumada com água destilada em balão volumétrico de 50 mL. Os teores dos metais foram obtidos através de medidas em espectrômetro de absorção atômica, contra padrões e branco dos reagentes, obtidos nas mesmas condições das amostras de sílica. Estas análises foram realizadas, gentilmente pelo Prof. José Salvador Barone, no Laboratório Puriquímica em São Paulo.

3.13) Caracterização Cromatográfica das Fases Estacionárias

As colunas foram avaliadas através das medidas realizadas nos cromatogramas obtidos com as fases estacionárias preparadas. Os parâmetros utilizados nessa avaliação foram pratos por metro (N/m), fator de assimetria (As_{10}), fator de retenção (k) e resolução (R_s). Os cálculos destes parâmetros foram feitos pelo software “Report Write Plus” que produz relatórios dos dados fornecidos pelo sistema de dados cromatográficos “Chrom Perfect”. As colunas foram avaliadas em triplicata.

Para a avaliação das colunas, foram utilizadas duas misturas testes dissolvidas em fase móvel, com as seguintes composições:

- Mistura 1: uracil, acetona, benzonitrila, benzeno, tolueno e naftaleno.
- Mistura 2: uracil, fenol, N,N-dimetilanilina, naftaleno e acenafteno.

O composto uracil foi utilizado como composto não retido para a obtenção do valor de t_M , necessário para os cálculos do parâmetro cromatográfico fator de retenção. Quando este composto não era separado do primeiro composto, acetona, era injetado separadamente para a obtenção do t_M .

A mistura 1 foi utilizada para avaliar o comportamento da fase estacionária com compostos neutros de polaridades diferentes: polares (acetona e benzonitrila) e apolares (benzeno, tolueno e naftaleno).

A mistura 2 foi utilizada para avaliar o comportamento da fase com compostos de caráter ácido (fenol), básico (N,N-dimetilanilina), neutros e hidrofóbicos (naftaleno e acenafteno).

As misturas não foram preparadas quantitativamente, e sim de forma que os compostos tivessem uma concentração suficiente para que os seus

picos nos cromatogramas possuísem uma altura razoável e semelhante entre si. Essa mistura foi armazenada sob refrigeração.

Os parâmetros cromatográficos foram calculados para todos os compostos da mistura teste, porém os resultados foram apresentados apenas para alguns deles, ou seja:

- t_R , N/m , As_{10} e k : calculados para o naftaleno, composto mais retido e para a N,N -dimetilanilina.
- R_S : calculado para o par acetona-benzonitrila, compostos de resolução cromatográfica mais difícil para este tipo de FE e para o par naftaleno- N,N -dimetilanilina.

3.13.1) Determinação da Vazão Através da Curva de van Deemter

A definição da vazão a ser utilizada na avaliação cromatográfica foi feita variando-se a velocidade do fluxo da fase móvel e determinando os valores de números de pratos (N), tempo de retenção do composto uracil (t_M) e comprimento das colunas (L). Com estes dados calculou-se a altura equivalente a um prato (H) e construiu-se a curva de van Deemter, através da qual se determinou a vazão ótima de trabalho, $0,2 \text{ mL min}^{-1}$.

3.13.2) Avaliação Cromatográfica de Fases Auto-imobilizadas Preparadas com Sílica Nua e Titanizada

Este estudo teve como objetivo comparar o desempenho cromatográfico das fases estacionárias auto-imobilizadas preparadas com sílica nua e com

sílica titanizada. A fase estacionária com sílica nua foi preparada como descrito no item 3.4.

3.14) Estabilidade Química das Fases Estacionárias Auto-Imobilizadas e Imobilizadas por Radiação Microondas

A estabilidade química das fases estacionárias auto-imobilizada e imobilizadas por radiação microondas nas potências de 520 e 586 W por 1800 s foi avaliada através da evolução do comportamento cromatográfico após a passagem de volumes pré-determinados de fase móvel pelas colunas, seguida de sucessivas injeções da mistura teste 1.

Inicialmente foram determinadas a eficiência (expressa por N/m), fator de assimetria e fator de retenção obtidas em determinadas vazões. Estes parâmetros cromatográficos também foram utilizados para monitorar o comportamento da coluna, durante os testes de estabilidade. A seguir passaram-se volumes de fases móveis múltiplos do volume da coluna que é calculada pela *Equação 11*.

$$V_c = \pi \cdot r^2 \cdot L \quad (10)$$

Onde: V_c = volume da coluna

$$\pi = 3,14$$

r = raio da coluna (0,5 x diâmetro da coluna)

L = comprimento da coluna

Após a passagem de determinados volumes de coluna de FM, avaliava-se a coluna nas condições de análise e reiniciava-se a passagem de FM. Este procedimento foi repetido até obter uma queda de cerca de 50% da eficiência da coluna ou até a passagem de 10000 volumes de coluna de fase móvel.

Foram utilizadas fases móveis neutras MeOH:H₂O 60:40 v/v e alcalinas MeOH:NaOH_(aq) 60:40 v/v com pH 9,0 ajustado com NaOH_(aq). Os testes foram efetuados logo após o recheio das colunas, com exceção da coluna imobilizada por 1800 s na potência de 520 W que foi utilizada após dois meses do seu recheio.

4) RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1) Síntese do Suporte Cromatográfico

A síntese do suporte de sílica titanizada pode ser representada pelas seguintes equações químicas: ⁽⁵⁶⁾



Na *Equação (11)* o tetrabutóxido de titânio se liga aos grupos silanóis. Depois é feita uma hidrólise para retirada dos grupos butóxidos da superfície (*Equação 12*). Esta é uma forma idealizada de representar a ligação do óxido de titânio à sílica, pois, como relatado na literatura, é possível que ocorram diversas reações laterais. ⁽⁵⁷⁾

A sílica modificada por titânia encontra grande aplicação na área de catálise devido ao seu caráter ácido e grande área superficial. Dessa forma, são descritos na literatura diferentes procedimentos para essa modificação. ⁽⁵⁶⁻⁶²⁾

O procedimento de titanização ⁽⁵⁶⁾, utilizado em trabalhos anteriores do LabCrom ⁽²⁴⁻²⁶⁾ apresentava etapas longas e trabalhosas como ativação da sílica por 4 horas, adição do tetrabutóxido de titânio sob atmosfera de argônio, refluxo por 12 horas e secagem por 48 horas. Por esse motivo, Collins e colaboradores ⁽⁴⁹⁾ desenvolveram no LabCrom um novo procedimento para a modificação da sílica com titânia e zircônia, o qual foi utilizado neste trabalho. Em relação ao procedimento empregado nos trabalhos anteriores, o atual apresenta as seguintes vantagens: i) não é necessária a etapa de ativação da sílica para eliminação da água fisicamente adsorvida; ii) não requer a

utilização de sistema de refluxo e atmosfera inerte e iii) são utilizadas condições menos drásticas (banho termostático a 40 °C).

4.2) Caracterização do Suporte e das Fases Estacionárias com Testes Físicos

4.2.1) Fluorescência de Raios-X de Energia Dispersiva

Na *Tabela 1* encontram-se os resultados de fluorescência de raios-X.

Tabela 1 – Teor de titânio na sílica nua e sílica titanizada.

Suporte	% Ti	mmol Ti/g de SiO ₂
SiO ₂	0,0	0,0
SiTi1	8,9	1,9
SiTi2	8,9	1,9
SiTi3	8,9	1,9
SiTi4	9,0	1,9

A porcentagem de titânio incorporado nas quatro titanizações mostrou que o procedimento de titanização utilizado é bastante reprodutível

Considerando-se a área superficial determinada pelo método BET e a concentração teórica de grupos silanóis da superfície da sílica nua, 8 $\mu\text{mol m}^{-2}$ ⁽¹⁰⁾, foi calculada a porcentagem de titânio teórica necessária para reagir com todos os grupos silanóis da sílica: 7,0%. Entretanto, deve-se considerar que apenas 4,5 $\mu\text{mol m}^{-2}$ dos silanóis da sílica estão na realidade disponíveis para reagir ⁽¹⁰⁾. Dessa forma, os valores de porcentagem de titânio determinados para as quatro titanizações (*Tabela 2*) sugeriram que uma boa parte do óxido

de titânio não se ligou covalentemente a sílica, estando apenas depositado sobre sua superfície.

O procedimento de titanização utilizado, além de ser mais simples, é também eficiente, pois foram obtidos valores altos de recobrimento da sílica pelo titânio. Com o procedimento de Kubota et al.⁽⁵⁶⁾ foi reportada uma incorporação de 4,0% ^(25, 63) de titânio em uma sílica com área superficial de $383 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$.

4.2.2) Medida da Área Superficial Específica, Diâmetro Médio (dp) e Volume Específico (vp) dos Poros

A *Tabela 2* apresenta os resultados obtidos na determinação das medidas de diâmetro médio e volume específico de poros para a sílica nua e sílica titanizada.

Tabela 2 – Valores de dp e vp para a sílica nua e titanizada.

Amostra	dp (nm)	vp (mL g ⁻¹)
SiO ₂	12,8	1,2
SiTi1	10,9	1,0

Tabela 3 – Área superficial específica da sílica nua, titanizada e da fase auto-imobilizada com carga inicial de 40% de PBD.

Amostra	Área (m ² g ⁻¹)
SiO ₂	412
SiTi1	376
SiTi(PBD)	321

Como pode ser observado nas *Tabelas 2 e 3*, o suporte SiTi1 apresentou diminuição do volume, do diâmetro médio do poro e da área superficial específica em relação à sílica não modificada. A diminuição no diâmetro médio dos poros indica que a reação não ocorreu homogeneamente, ou seja, a titânia teve acesso preferencial aos poros grandes. Ao reagir com os grupos silanóis, a maior parte da titânia forma uma monocamada na superfície da sílica, entretanto uma pequena proporção preenche os poros.⁽⁶¹⁾ Outro fator que pode ter contribuído para essa diminuição é a presença de titânia que não reagiu covalentemente com a sílica e não foi eliminada nas etapas de lavagem. Castillo et al.⁽⁶⁴⁾ e Retuert et al.⁽⁶¹⁾ relataram uma diminuição de 7 e 12%, respectivamente, na área superficial da sílica após sua modificação com titânia, usando outros procedimentos. Neste trabalho a diminuição foi de 9%.

A auto-imobilização do PBD no suporte titanizado também ocasionou uma diminuição na área superficial específica, confirmando que houve recobrimento do suporte.

4.2.3) Espectroscopia no Infravermelho

Na *Figura 9* são apresentados os espectros no infravermelho para a sílica nua (*A*), sílica titanizada (*B*), PBD (*C*), fase estacionária auto-imobilizada (*D*), fase estacionária imobilizada por 60 segundos na potência de 452 W (*E*), fase estacionária imobilizada por 1800 segundos na potência de 520 W (*F*).

Os espectros no infravermelho da sílica nua e da sílica titanizada (*Figuras 9A e 9B*) apresentaram bandas em regiões equivalentes. A banda em torno de 3450 cm^{-1} corresponde às vibrações dos grupos hidroxilas ligados por

pontes de hidrogênio à água fisicamente adsorvida e também aos grupos hidroxilas geminais. Em 1109 e 972 cm^{-1} aparecem as bandas atribuídas aos siloxanos e aos silanóis livres, respectivamente. O fato de não ter aparecido um sinal perceptível em torno de 2965 cm^{-1} (característico das ligações C-H) no espectro da sílica titanizada, indica que praticamente todo o tetrabutóxido do reagente de titânio sofreu hidrólise.

O espectro no infravermelho do PBD (*Figura 9C*) apresentou cinco bandas principais que caracterizam este polímero: a absorção em 723 cm^{-1} que é característica da estrutura cis-1,4, a banda em 909 cm^{-1} que é atribuída à estrutura de adição 1,2, enquanto que a banda em ~961 cm^{-1} é referente às duplas ligações trans-1,4 internas.⁽³¹⁾ As três bandas em torno de 2900 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento C-H das duplas ligações do PBD e a banda em 1440 cm^{-1} é referente à deformação C-H.⁽¹⁵⁾

Comparando-se os espectros da sílica titanizada e do PBD, observou-se que eles apresentaram sinais em regiões bem semelhantes que se sobrepõem nos espectros das fases estacionárias auto-imobilizada e imobilizadas (*Figura 9D, 9E e 9F*). Entretanto, foi possível comprovar a incorporação do PBD ao suporte titanizado através das bandas em torno de 2928 cm^{-1} , características do PBD e os sinais em torno de 1100 cm^{-1} , identificados no espectro da sílica titanizada. Nos espectros das fases imobilizadas foi observado também que a intensidade do sinal característico do PBD em torno de 2928 cm^{-1} aumentou com o aumento do tempo de imobilização.

A extensão do recobrimento dos grupos silanóis pelo PBD não pode ser avaliada, pois o sinal dos silanóis livres encontra-se na mesma região que a banda em 961 cm^{-1} referente às duplas ligações trans-1,4 internas do PBD.

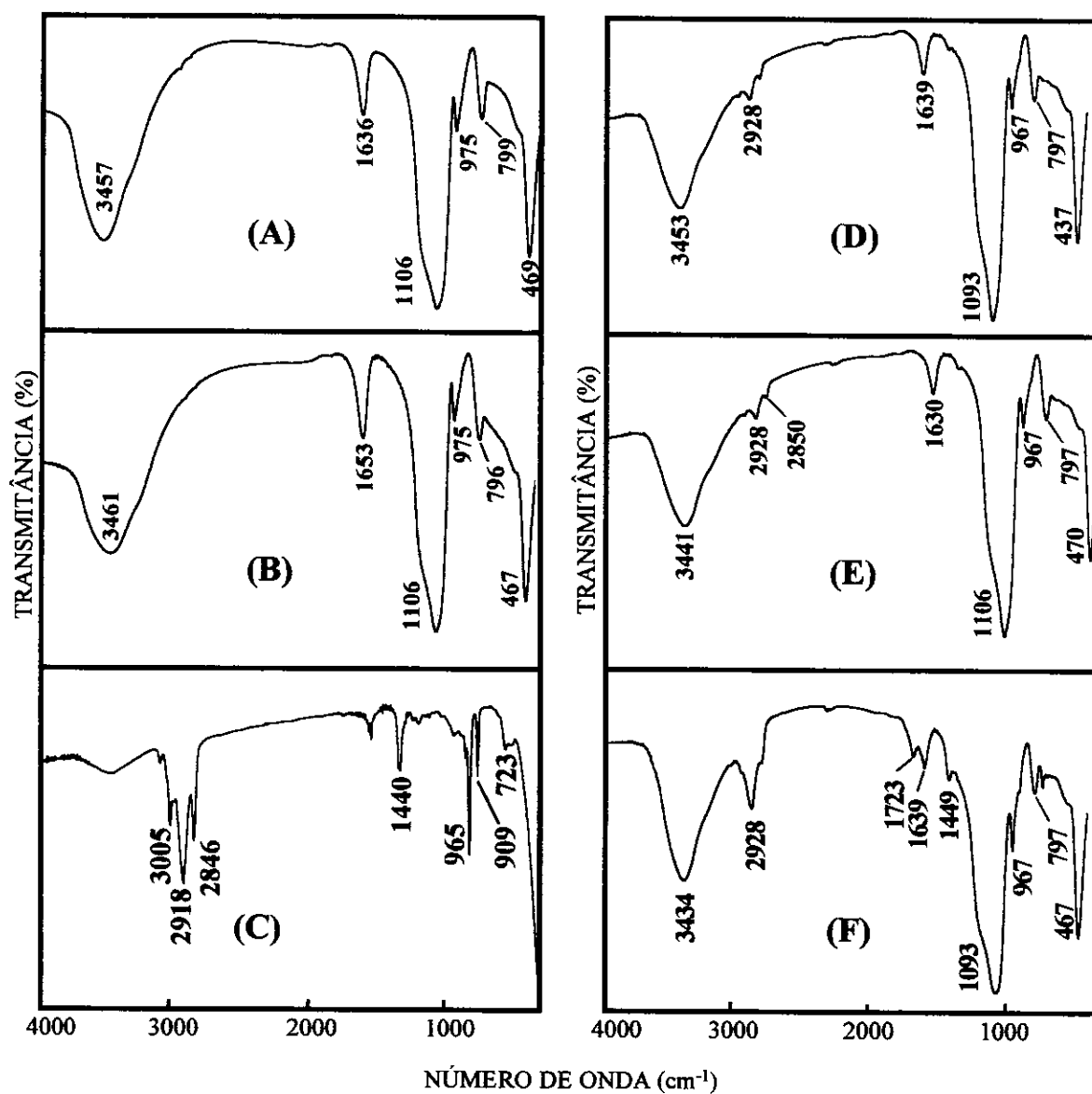


Figura 9 – Espectros no Infravermelho para: (A) Sílica nua; (B) Sílica titanizada; (C) PBD; (D) Fase auto-imobilizada; (E) Fase imobilizada por 60 s na potência de 452 W e (F) Fase imobilizada por 1800 s na potência de 520 W.

4.2.4) Análise Termogravimétrica

As curvas termogravimétricas da sílica nua e titanizada foram comparadas e estão apresentadas na *Figura 10*. Os termogramas forneceram dados de porcentagem de perda de massa e a faixa de temperatura na qual houve a perda. Quando os suportes foram submetidos ao aquecimento até 100 °C, a sílica nua apresentou perda de massa de 1,25%, e a sílica titanizada de 0,4%, referentes à eliminação da água fisicamente adsorvida.

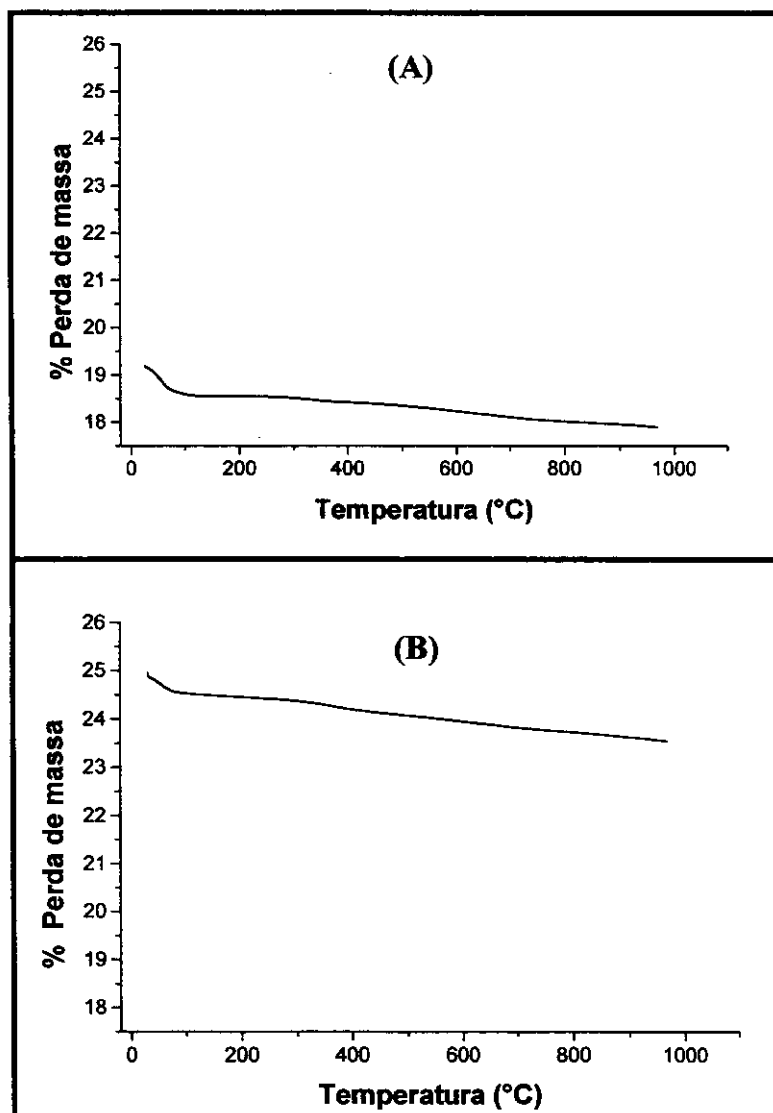


Figura 10 – Curvas termogravimétricas para: (A) Sílica nua e (B) Sílica titanizada

4.2.5) Absorção de Raios-X Duros (XAS) com Luz Síncrotron

O espectro de XAS divide-se em duas regiões de energia: XANES (X-ray Absorption Near Edge Structure), menores energias e EXAFS (Extended X-ray Adsorption Fine Structure), maiores energias, como indicado na *Figura 11*.⁽⁶⁵⁾

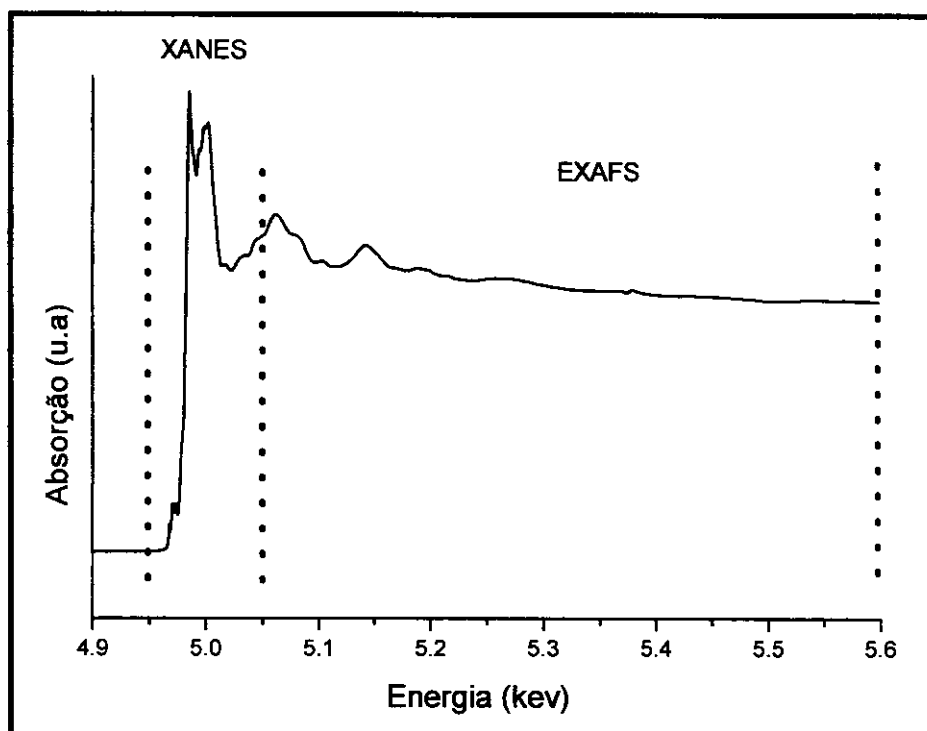


Figura 11 - Espectro XAS da titânia na forma anatásia

A região XANES do espectro, fornece informações a respeito da geometria da camada de TiO_2 sobre a sílica através da comparação dos espectros dos suportes de sílica titanizada com os espectros dos padrões da titânia (rutila e anatásia).⁽⁶⁶⁾ A *Figura 12* indica que a camada de titânia sobre a sílica está na forma anatásia, uma vez que os espectros XANES das amostras são mais similares a esta forma cristalina.

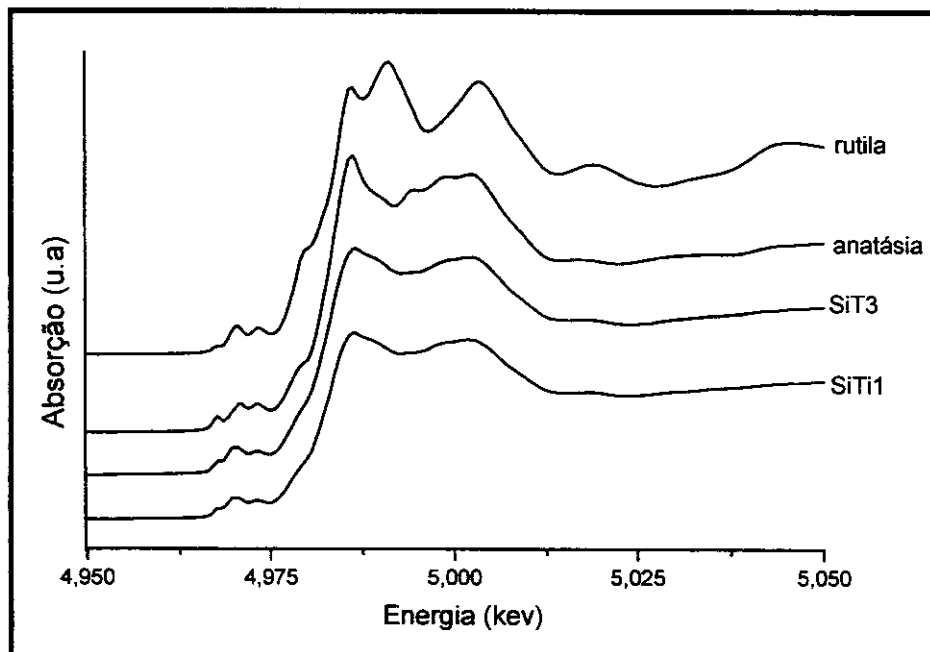


Figura 12 - Espectros XANES das amostras de sílica titanizada e padrões de titânia (rutila e anatásia).

Através do processamento dos dados da região EXAFS ⁽⁶⁶⁾ (feito através do programa WINXAS) foram obtidos os valores do número de coordenação e a distância de ligação Ti-O para as duas amostras de sílica titanizada. Os valores para o padrão de anatásia foram obtidos da literatura (Tabela 4). ⁽⁶⁷⁾

Tabela 4 - Número de coordenação e distância da ligação Ti-O para as amostras de sílica titanizada e o padrão de anatásia.

Amostra	Número de coordenação	Distância da ligação Ti-O (Å)
SiTi1	5,9	1,94
SiTi3	6,0	1,95
anatásia	6,0	1,95

A titânia pura na forma cristalina anatásia apresenta geometria octaédrica com o átomo de titânio hexa-coordenado a átomos de oxigênio.⁽⁶⁸⁾ O número de coordenação 6 obtido para as sílicas titanizadas, confirma os resultados obtidos com os espectros na região XANES, sugerindo que a titânia está depositada na sílica na forma cristalina.

4.3) Caracterização do Suporte e das Fases Estacionárias com Testes Químicos

4.3.1) Análise Elementar de Carbono

Na *Tabela 5* são apresentados os resultados das análises elementares de carbono para os quatro lotes de sílica titanizada identificados como SiTi1, SiTi2, SiTi3 e SiTi4 e para a sílica nua.

Tabela 5 – Teor de carbono na sílica nua e nas sílicas titanizadas.

Suporte	%C
Sílica nua	1,0
SiTi1	0,3
SiTi2	1,2
SiTi3	0,8
SiTi4	0,7

Nos lotes de sílica titanizada 1, 3 e 4 houve diminuição da quantidade de carbono, que pode ter sido retirado juntamente com o reagente tetrabutóxido de titânio na etapa de lavagens com butanol na reação de titanização.

Os teores de carbono das fases auto-imobilizadas e imobilizadas por radiação microondas serão apresentados no item 4.4 a fim de serem discutidos juntamente com a avaliação cromatográfica.

4.3.2) Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS)

A análise por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) da sílica foi realizada para verificar a existência de resíduos de metais, provenientes de processos de fabricação e purificação inadequados.

Tabela 6 – Concentração de metais na sílica nua.

Metais	Al	Fe	Ti	Ca	Mg	Na	K
Concentração (mg/L)	40	55	40	5	2	105	10

Além dos grupos silanóis expostos, as impurezas metálicas são outra fonte de alargamento de picos e perda de resolução cromatográfica na análise de compostos básicos, pois aumentam a acidez da sílica. Além disso, as impurezas metálicas podem influenciar negativamente no processo de modificação da sílica e conseqüentemente afetar o desempenho cromatográfico.⁽⁶⁹⁾

O conteúdo de resíduos de metais depende do material de partida utilizado e do processo de síntese da sílica, e geralmente as sílicas cromatográficas contém 0,1-0,3% de metais.⁽⁶⁹⁾ A sílica utilizada neste trabalho apresentou 0,03% de impurezas metálicas.

Diferentes trabalhos mostraram que os sítios de adsorção ácida da sílica são causados por impurezas metálicas, que interagem aproximadamente 50

vezes mais fortemente do que os silanóis residuais. Na literatura foi reportado que as impurezas metálicas causam um aumento na acidez dos silanóis vizinhos e, dessa forma, assume-se que as impurezas metálicas interagem com os analitos básicos indiretamente, através dos grupos silanóis.⁽⁶⁹⁾

4.4) Calibração do Forno de Microondas

A equação para calcular a potência num sistema de microondas é derivada da teoria elementar do calor específico de uma dada massa à pressão constante. O calor específico, C_p , é a quantidade de calor requerida para aumentar a temperatura de uma dada massa de 1 °C. A energia absorvida produz um aumento, ΔT , na temperatura. Se uma quantidade de energia é fornecida por unidade de tempo, então a potência absorvida P , por uma substância, no caso a água, na cavidade do microondas pode ser expressa pela *Equação 10*:⁽⁴²⁾

$$\text{Potência absorvida} = \frac{k \cdot C_p \cdot m \cdot \Delta T}{t} \quad (13)$$

Onde: k : fator de conversão de calorias s^{-1} para watts = 4,184 W cal⁻¹ s

C_p : calor específico da água = 1000 cal g⁻¹ °C⁻¹

m : massa de água utilizada (g)

ΔT : $T_{\text{final}} - T_{\text{inicial}}$ (°C)

t : tempo de aquecimento (s)

Os valores de temperatura da água medidos na calibração foram aplicados na *Equação 10* e foram calculados os valores reais de potência em

watts para os níveis estudados. Com estes valores foi construído o gráfico de potência em W versus porcentagem de potência, mostrado na *Figura 13*:

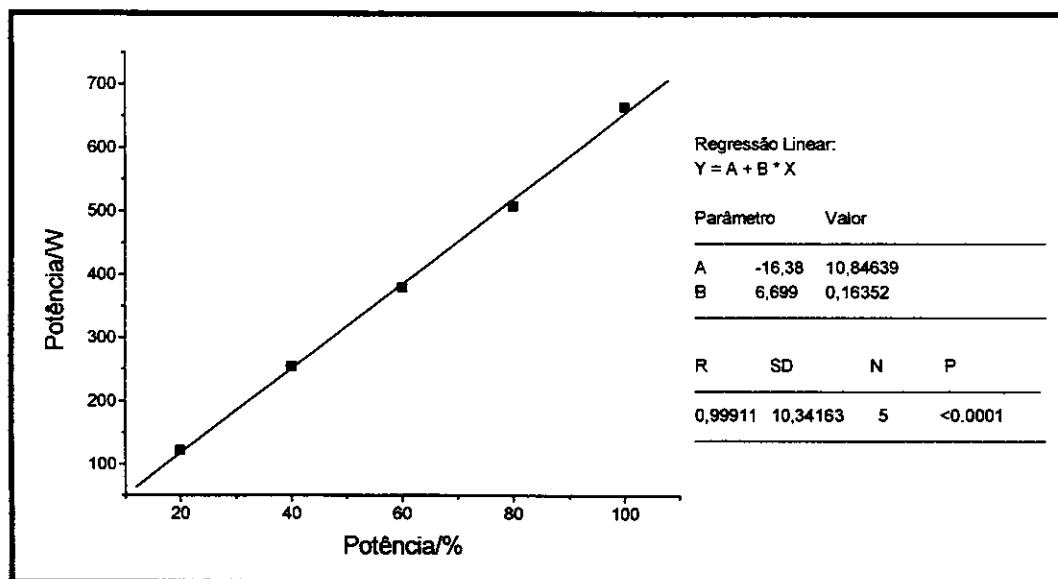


Figura 13 – Relação entre potência absorvida e a potência programada do forno de microondas.

Através da equação da reta deste gráfico foram determinados os valores reais de potência em watts para todos os níveis de potência programada do forno de microondas, que são mostrados na *Tabela 7*.

Tabela 7 – Potências determinadas (em Watts e porcentagem) para todos os níveis de potência programada do forno de microondas.

Potência programada (%)	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10
Potência determinada (W)	653	586	520	452	386	318	252	185	118	51
Potência determinada (%)	100	90	78	69	59	49	39	28	18	8

4.5) Avaliação Cromatográfica

4.5.1) Otimização da Carga de PBD

Para decidir qual seria a porcentagem de carga de PBD a ser auto-imobilizada sobre a sílica titanizada, prepararam-se três lotes de fases estacionárias com cargas iniciais de 40, 50 e 60 % (m/m).

A partir dos valores de porcentagem de carbono obtidos por análise elementar das fases estacionárias após o desempacotamento das colunas foi possível calcular os seguintes parâmetros: porcentagem de PBD que permaneceu na fase estacionária e massa específica de PBD (m_{PBD}). Através da análise de carbono, aferiu-se que uma amostra de PBD (m_{PBD}) contém uma fração de 0,889 de carbono (m_{C}), portanto:

$$m_{\text{PBD}} = \frac{m_{\text{C}}}{0,889} \quad (14)$$

Ou, em porcentagem:

$$\% \text{PBD} = \frac{\% \text{C}}{88,9\%} \times 100 \quad (15)$$

A porcentagem de carbono de uma amostra é dada pela *Equação 16*.⁽¹⁵⁾

$$\% \text{C} = \frac{m_{\text{C}}}{(m_{\text{SiTi}} + m_{\text{PBD}})} \times 100 \quad (16)$$

Isolando m_{C} e substituindo (14) em (16):

$$m_{\text{PBD}} = \frac{(m_{\text{SiTi}} + m_{\text{PBD}})}{88,9} \times \%C \quad (17)$$

Isolando m_{PBD} e normalizando para massa específica ($\bar{m}_{\text{PBD}}$), isto é, massa por grama de sílica, obtém-se:

$$\bar{m}_{\text{PBD}} = \frac{m_{\text{PBD}}}{m_{\text{SiTi}}} = \frac{\%C}{88,9 - \%C} \quad (18)$$

Assumindo que os poros da sílica titanizada têm um diâmetro (d_p) constante de 10,9 nm e que o polímero depositado nos poros da sílica titanizada seja caracterizado por uma camada de espessura constante τ , é possível calcular essa espessura pela seguinte equação: ⁽¹⁴⁾

$$\tau = - \left(\frac{\sqrt{d^2 - Fd^2} - d}{2} \right) \quad (19)$$

A fração F pode ser obtida pela *Equação 20*: ⁽¹⁴⁾

$$F = \frac{\bar{m}_{\text{PBDretido}}}{\bar{m}_{\text{PBDporos cheios}}} \quad (20)$$

A $\bar{m}_{\text{PBDretido}}$ é obtida diretamente da *Equação 18*. Assumindo-se que os poros estejam totalmente preenchidos por PBD, $\bar{m}_{\text{PBDporos cheios}}$ pode ser obtida a partir do volume específico de poro, v_p da sílica titanizada, 1,02 mL g⁻¹ e da densidade, ρ , do polímero, 0,89 g mL⁻¹: ⁽¹⁴⁾

$$\bar{m}_{\text{PBD poros cheios}} = v_{\text{PSTi}} (\text{mL/g}) \times \rho_{\text{PBD}} (\text{g/mL}) \quad (21)$$

Os valores de espessura da camada calculados constam da *Tabela 8*, juntamente com os parâmetros cromatográficos para as três porcentagens de cargas avaliadas. Foram recheadas duas colunas com cada fase. Os valores de cada linha representam a média de seis injeções, três em cada uma das colunas, obtidas após o seu condicionamento.

Tabela 8 – Porcentagem inicial e final de PBD, parâmetros cromatográficos e espessura da camada para as fases com 40, 50 e 60% de PBD inicial.

PBD Inicial (%)	PBD Final (%)	t_R^* (min)	k^*	N/m^* (m^{-1})	As^*	R_s^{**}	Espessura da camada τ (nm)
40	11,5	14,5	3,4	69500±2900	1,4	2,3	0,39
50	15,3	22,5	5,4	62800±1900	0,7	3,5	0,57
60	17,2	26,1	7,0	64600±1700	0,7	4,5	0,66

Calculado para o naftaleno, ^{**} Calculado para o par acetona-benzonitrila

OBS: uma linha corresponde à média de três injeções.

Pela *Tabela 8* percebe-se que conforme se aumenta a porcentagem de polímero sorvido no suporte, aumentam-se os valores de retenção (t_R e k). Isso ocorre, pois uma maior quantidade de fase líquida presente promove uma maior retenção dos compostos apolares na fase estacionária.

Comparando-se as três fases, a de 40% foi a que apresentou maior eficiência e também fatores de assimetria dentro do intervalo aceito, além de menor tempo de análise. O melhor desempenho desta fase pode também ser evidenciado pelo perfil dos cromatogramas apresentados na *Figura 14*. Dessa

forma, a carga inicial de 40% de PBD foi adotada como valor ótimo para dar continuidade a este trabalho.

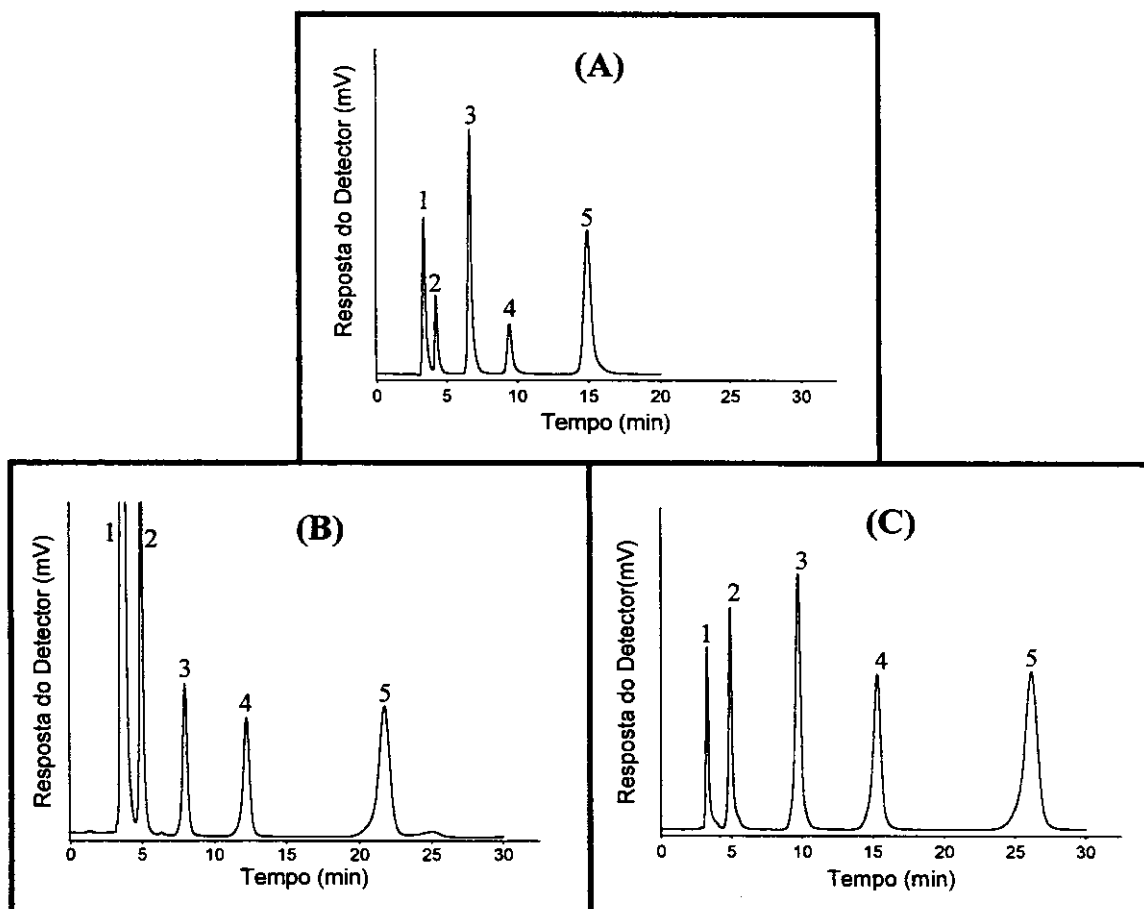


Figura 14 – Cromatogramas obtidos na otimização da carga inicial de PBD: A) 40%; B) 50% e C) 60%. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno.

4.5.2) Definição da Vazão de Trabalho: Fase Auto-imobilizada com 40 % de Carga Inicial de PBD

A vazão de trabalho foi definida com base na curva de van Deemter, onde foram plotados os valores de altura de prato (H) versus velocidade linear

da fase móvel (μ), extraídos dos cromatogramas obtidos em vazões de fase móvel que variaram de 0,1 a 1,0 mL min⁻¹ (*Figura 15*).

Na curva de van Deemter, a vazão ótima é determinada pela eficiência máxima localizada no ponto mínimo da curva.

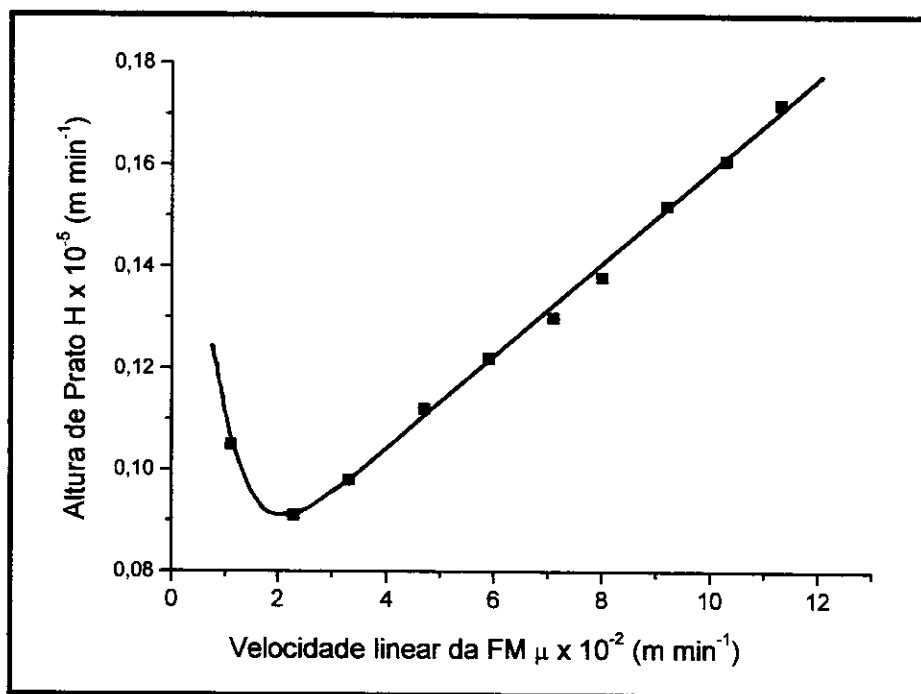


Figura 15 – Curva de van Deemter para a coluna de sílica titanizada com carga inicial de 40% de PBD.

Os valores de H e μ foram determinados substituindo-se os valores de número de pratos, tempo de retenção do composto uracil e comprimento da coluna (0,06 m) nas *Equações 7 e 9*. O cromatograma obtido na vazão de 0,2 mL min⁻¹ apresentou uma eficiência de 65900 N m⁻¹ e tempo de retenção do uracil (t_M) de 2,6 min, resultando num valor de μ igual a $2,3 \times 10^{-2}$ e H igual a $0,091 \times 10^{-5}$, que corresponde ao ponto mínimo da curva, como pode ser visto

na *Figura 15*. Dessa forma, a vazão ótima determinada para a coluna recheada com fase auto-imobilizada foi de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$.

4.5.3) Avaliação Cromatográfica de Fases Auto-Imobilizadas Preparadas com Sílica Nua e Sílica Titanizada.

Este estudo teve como objetivo comparar, através de avaliações cromatográficas, as fases estacionárias preparadas com o polímero PBD auto-imobilizado nos suportes de sílica nua e de sílica modificada por titânia. Na *Tabela 9*, são apresentados os parâmetros cromatográficos para essas duas fases.

Tabela 9 - Parâmetros cromatográficos e porcentagem final de PBD de fases estacionárias auto-imobilizadas preparadas com sílica nua e sílica titanizada.

Coluna	t_R^* (min)	k^*	$N/m^* (m^{-1})$	As^*	R_s^{**}	PBD final (%)
SiO ₂ (PBD)	15,9	4,5	43800±600	1,0	2,5	15,0
SiTi(PBD)	14,5	3,4	69500±2900	1,4	2,3	11,5

* Calculado para o naftaleno, ** Calculado para o par acetona-benzonitrila,
OBS: uma linha corresponde à média de três injeções.

Como pode ser observado na *Tabela 9*, a quantidade de PBD foi menor no suporte titanizado. Esta diferença na quantidade de PBD presente na sílica nua e titanizada pode ser explicada através de algumas considerações feitas a seguir.

Bottoli⁽¹⁴⁾ investigou o papel dos grupos silanóis da superfície da sílica no processo de fixação do polímero que ocorre na auto-imobilização. Neste estudo foi avaliada a extensão da adsorção do polímero na superfície da sílica tendo grupos silanóis menos reativos. Para isso, a sílica foi modificada com

grupos hidrofóbicos, como clorotrimetilsilano e poli(dimetilsiloxano), e posteriormente auto-imobilizada com PMOS. Através de testes químicos, físicos e cromatográficos foi mostrado que a modificação da superfície da sílica com grupos hidrofóbicos minimiza a interação do PMOS com a sílica, pois neste caso, os silanóis tornaram-se menos reativos. Pode se concluir, dessa forma, que os grupos silanóis exercem um papel fundamental no processo de sorção do polímero na sílica.

No presente trabalho, o óxido de titânio foi depositado na superfície da sílica através da ligação com os grupos silanóis, isto é, neste caso também ocorreu proteção dos silanóis, tornando-os menos reativos para a sorção do PBD. Além disso, segundo os resultados obtidos na análise por espectrometria de absorção de raios-X, uma boa parte do óxido de titânio encontra-se apenas depositado na superfície da sílica, sem ligação covalente, dessa forma há também menos espaços nos poros da sílica para retenção do PBD. Esses fatos ajudam a explicar a menor porcentagem de PBD presente na sílica titanizada da fase auto-imobilizada.

Entretanto, após essa discussão a respeito do papel dos grupos silanóis, fica uma dúvida se os grupos titanóis contribuem para a sorção do PBD na superfície da sílica titanizada. Na literatura não foram encontrados relatos a respeito da atividade dos titanóis no recobrimento ou reação com polímeros. Contudo, em sua revisão sobre suportes cromatográficos, Buchmeiser⁽²³⁾ relata que a utilização de titânia como suporte ainda é muito limitada justamente devido à dificuldade de se modificar a sua superfície. Considerando-se este dado e o fato de que a incorporação na sílica titanizada foi menor, provavelmente os titanóis não contribuem no processo de sorção do PBD no suporte, pelo contrário, talvez até dificultem esse processo, já que também ocupam espaço nos poros da sílica.

Esta menor quantidade de polímero sorvido na sílica modificada, resultou em uma maior eficiência desta fase estacionária quando comparada com aquela preparada com a sílica nua, como pode ser visualizado na *Figura 16*.

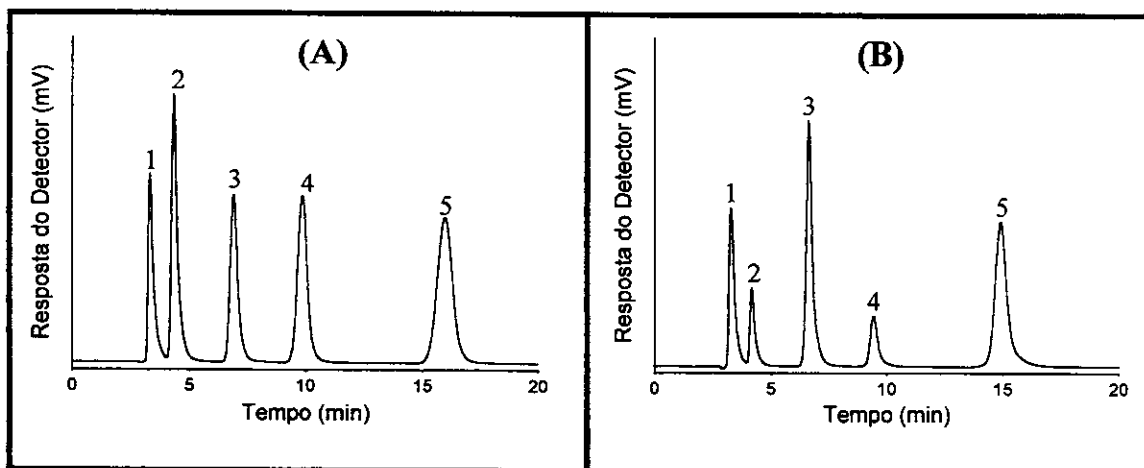


Figura 16 - Cromatogramas obtidos para as fases auto-imobilizadas baseadas em: (A) Sílica nua e (B) Sílica titanizada. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno.

4.5.4) Estudo das Condições do Forno de Microondas.

A potência do forno e o tempo de irradiação foram as variáveis a serem otimizadas no estudo de imobilização de fases estacionárias por microondas.

4.5.4.1) 1º Estudo: Variação de Potência e Tempo

Inicialmente foram testadas quatro combinações de potência e tempo de irradiação por microondas (*Tabela 10*) para a imobilização do PBD auto-imobilizado sobre o suporte.

Tabela 10 – Testes iniciais com variação do tempo e da potência do forno de microondas.

Coluna	Potência (W)	Tempo (s)
I	452	30
II	452	900
III	586	30
IV	586	900

Na *Tabela 11*, são apresentados os parâmetros cromatográficos N/m , A_s , R_s e k , obtidos com as fases irradiadas nessas condições. Nesta tabela são mostrados também os parâmetros da fase auto-imobilizada com 40% de carga inicial de PBD para comparação. Cada linha corresponde à média das três primeiras injeções.

Tabela 11 – Parâmetros cromatográficos obtidos com as fases imobilizadas em condições pré-determinadas e porcentagem final de PBD.

Coluna	t_R^* (min)	k^*	N/m^* (m^{-1})	A_s^*	R_s^{**}	PBD final (%)
auto- imobilizada	14,5	3,4	69500±2900	1,4	2,3	11,5
I	8,50	1,9	50700±1600	2,3	1,3	12,3
II	32,4	11	34900±200	0,9	4,3	23,0
III	19,0	5,5	72600±300	1,2	2,7	11,8
IV	27,6	9,6	21200±2700	1,2	3,3	22,9

*Calculado para o naftaleno, **calculado para o par acetona-benzonitrila.

OBS: uma linha corresponde à média de três injeções.

A coluna III foi a que apresentou melhor desempenho cromatográfico, com bons valores de eficiência e de assimetria como pode ser visto na *Figura 17A*. Entretanto, para testar a estabilidade dessa fase fizeram-se mais cinco

injeções logo em seguida às três primeiras e observou-se que essa fase não era estável, pois sua eficiência caiu até chegar num patamar de 42500 N m^{-1} e a assimetria foi de 2,2 na sétima injeção (*Figura 17B*). Isso pode ter ocorrido, porque apesar de uma alta potência, o tempo de irradiação foi muito baixo (30 segundos) e dessa forma ocorreu uma fraca sorção do PBD no suporte, sendo que a partir da quinta injeção, o polímero provavelmente foi arrastado pela fase móvel.

O tempo de 900 segundos foi muito longo. Esse aquecimento excessivo pode ter provocado a degradação do PBD e por isso as fases irradiadas por este período apresentaram baixa eficiência. Além de apresentarem baixo valor de eficiência, os picos do cromatograma obtido para a coluna III na sétima injeção apresentaram caudas resultando em um alto valor de fator de assimetria.

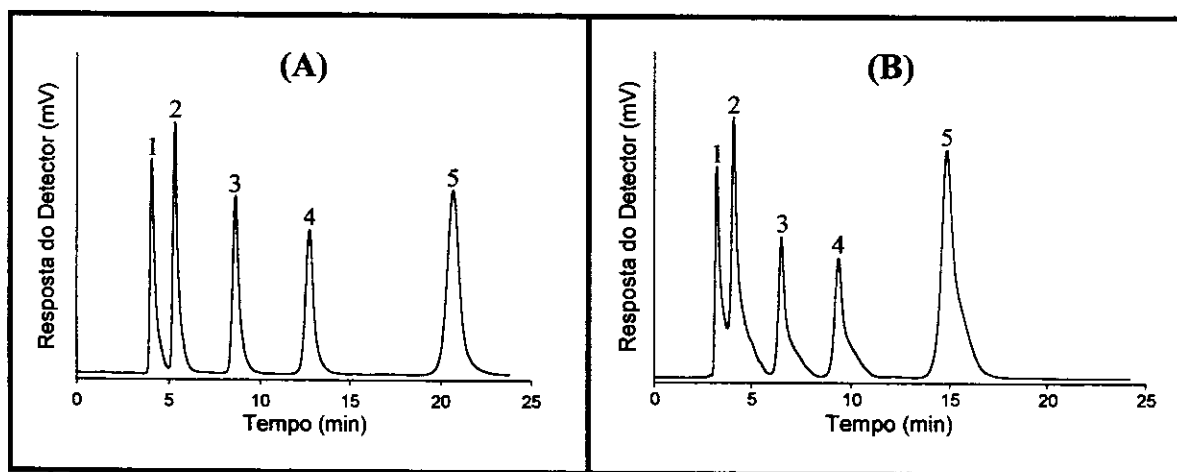


Figura 17 – Cromatogramas obtidos para a coluna III ($P = 586 \text{ W}$, $t = 30 \text{ s}$). A) 3ª injeção; B) 7ª injeção. Condições cromatográficas: vazão $0,2 \text{ mL min}^{-1}$; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção $10 \mu\text{L}$; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno.

A coluna III, apesar de não apresentar estabilidade, foi a que mostrou melhor desempenho entre as quatro condições, nas três primeiras injeções. Dessa forma, fixou-se a potência em 586 W e iniciaram-se outros testes com tempos de irradiação intermediários, entre 30 e 900 s, para tentar obterem fases mais estáveis.

4.5.4.2) 2º Estudo: Variação do Tempo com Potência 586 W

A *Tabela 12* mostra os parâmetros cromatográficos obtidos, a porcentagem final de PBD e a espessura da camada variando-se o tempo de irradiação de 30 a 600 s e mantendo-se a potência constante em 586 W.

Tabela 12 – Influência do tempo de irradiação nos parâmetros cromatográficos, na porcentagem final de PBD e espessura da camada, fixando-se a potência do forno de microondas em 586 W.

Tempo (s)	t_R^* (min)	k^*	$N/m^* (m^{-1})$	As^*	R_s^{**}	PBD final (%)	Espessura da camada τ (nm)
30	19,0	5,5	72600±300	1,2	2,7	11,8	0,42
40	20,2	7,8	42400±800	2,0	2,8	12,7	0,45
60	13,2	3,3	51700±1400	1,9	1,9	13,5	0,48
120	30,3	11	36000±800	1,6	3,5	20,6	0,84
180	29,5	11	21600±400	1,3	3,4	22,4	0,95
300	30,3	11	39200±1900	1,1	3,6	20,1	0,81
600	34,0	13	10800±230	0,6	2,9	24,3	1,06

* Calculado para o naftaleno, ** Calculado para o par acetona-benzonitrila
OBS: uma linha corresponde à média de três injeções.

Variando-se o tempo de irradiação no microondas de 120 a 600 segundos, percebe-se que a eficiência diminui. Devido ao tempo de irradiação longo, houve a formação de uma camada mais espessa de polímero que aumentou para o tempo de 600 segundos e isso provocou uma queda maior na eficiência. A maior espessura da camada de PBD é um fator negativo porque diminui a velocidade de transferência de massa do soluto entre a fase estacionária e a fase móvel, diminuindo a eficiência. Isto pode ser observado na *Tabela 12* através do aumento de k do tempo 300 a 600 s, pois quanto maior a quantidade de polímero, maior é a interação dos solutos apolares com a fase estacionária. Essa eficiência baixa também pode ser justificada pelo fato de que após o tratamento com os tempos de 120 a 600 s, foi observado que as fases adquiriram uma coloração marrom, indicando que a irradiação contínua no microondas ocasiona a degradação das fases.

Na *Figura 18*, podem-se visualizar os cromatogramas obtidos com as fases imobilizadas na potência de 586 W por 40, 180 e 600 s. Verificou-se que 600 s foi um tempo excessivo, uma vez que houve aumento do tempo de análise e alargamento dos picos do naftaleno, benzeno e tolueno.

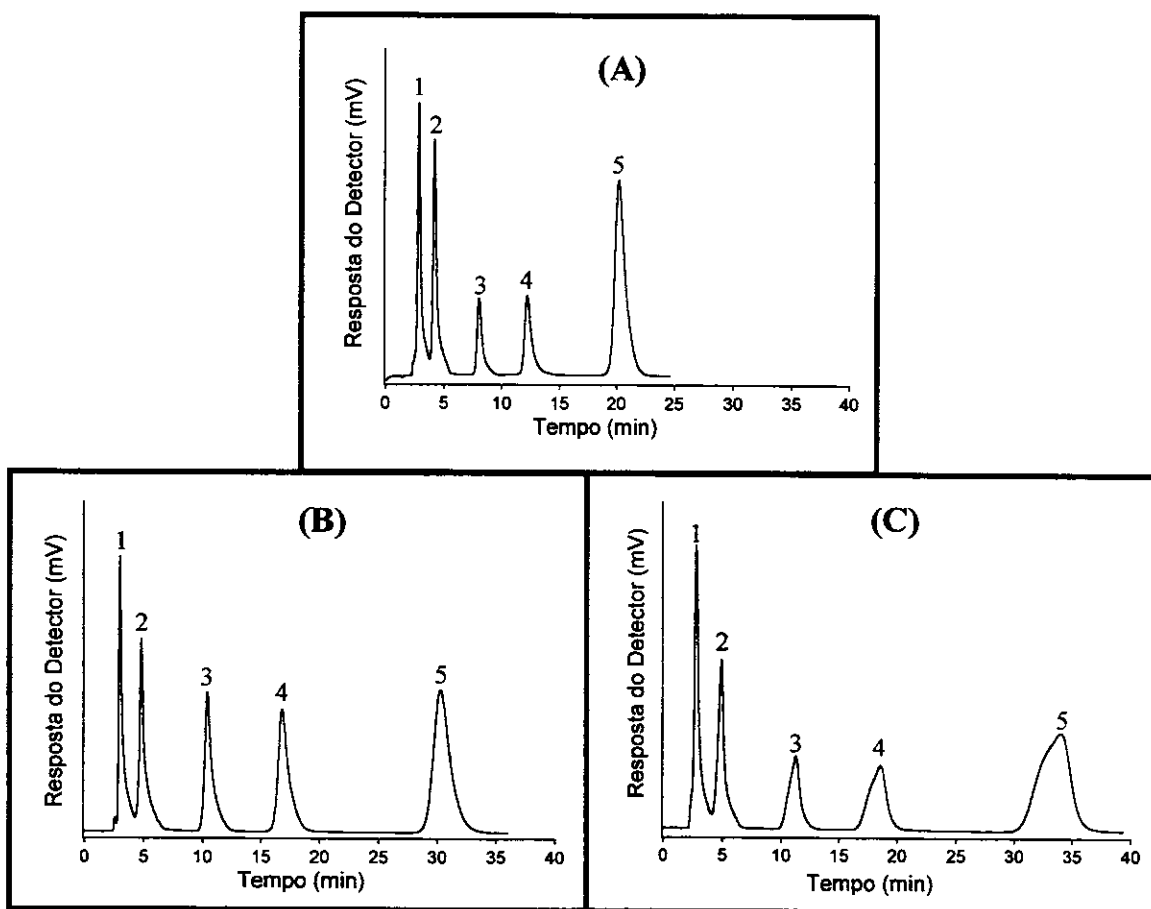


Figura 18 - Cromatogramas obtidos para as fases irradiadas na potência de 586 W com os seguintes tempos de irradiação: (A) 40; (B) 180 e (C) 600 s. Condições cromatográficas: vazão $0,2 \text{ mL min}^{-1}$; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção $10 \mu\text{L}$; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno.

Na potência de 586 W com tempo de irradiação de 30 segundos, não se conseguiu uma fase estável, devido ao baixo tempo de irradiação. Por outro lado com tempos maiores de irradiação não se obtiveram fases estacionárias com boa eficiência cromatográfica. Partindo-se do fato de que as fases estavam degradando quando se utilizavam tempos longos de irradiação,

resolveu-se resfriá-las durante a irradiação. Considerou-se que o resfriamento apenas atenuaria o efeito do tempo longo de irradiação, por isso decidiu-se também diminuir a potência, utilizando a potencia mínima do microondas que era de 51 W.

4.5.4.3) 3º Estudo: Variação do Tempo com Potência 51 W.

Foi testada então, a potência de 51 W com os seguintes tempos de irradiação: 900, 1200, 1800, 2400 e 3000 segundos. A *Tabela 13* apresenta os valores dos parâmetros cromatográficos para essas fases.

Tabela 13 – Influência do tempo de irradiação, com intervalos de resfriamento de 120 s, nos parâmetros cromatográficos fixando-se a potência do microondas em 51 W.

Tempo (s)	t_R^* (min)	k^*	N/m^* (m^{-1})	As^*	R_s^{**}
0	14,5	3,4	69500±2900	1,4	2,3
900	19,4	6,6	52400±300	1,1	2,9
1200	28,1	10	54300±800	1,7	2,9
1800	26,2	9,5	60500±3900	1,6	3,3
1800 ^E	16,8	4,9	59600±900	1,2	2,7
2400	20,1	6,5	43700±1100	0,9	2,4
3000	21,2	6,4	49700±1000	1,5	2,8

* Calculado para o naftaleno, ** Calculado para o par acetona-benzonitrila, ^E Fase extraída
OBS: uma linha corresponde à média de três injeções.

Considerando-se o parâmetro eficiência, a melhor condição encontrada foi a de potência 51 W com tempo de irradiação 1800 s, mas mesmo assim essa fase estacionária imobilizada mostrou desempenho inferior ao da fase auto-imobilizada, cuja eficiência ficou em torno de 69500 N/m. O alto valor

do fator de retenção mostrou que havia um excesso de polímero nesta fase. Preparou-se então uma nova fase, nessas mesmas condições, mas extraiu-se o excesso de polímero antes do enchimento da coluna. Como pode ser observado na *Tabela 13*, a fase extraída e a não-extraída apresentaram valores de eficiência semelhantes, sendo que a extraída apresentou melhor fator de assimetria e menor tempo de análise.

Na *Figura 19* são mostrados os cromatogramas obtidos com as fases irradiadas por 1800s, na potência de 51 W, sem e com extração. A fase extraída apresentou diminuição no tempo de análise e melhora no fator de assimetria. O procedimento de extração, porém, consome muito tempo e solventes por isso decidiu-se não fazer extração do excesso de PBD.

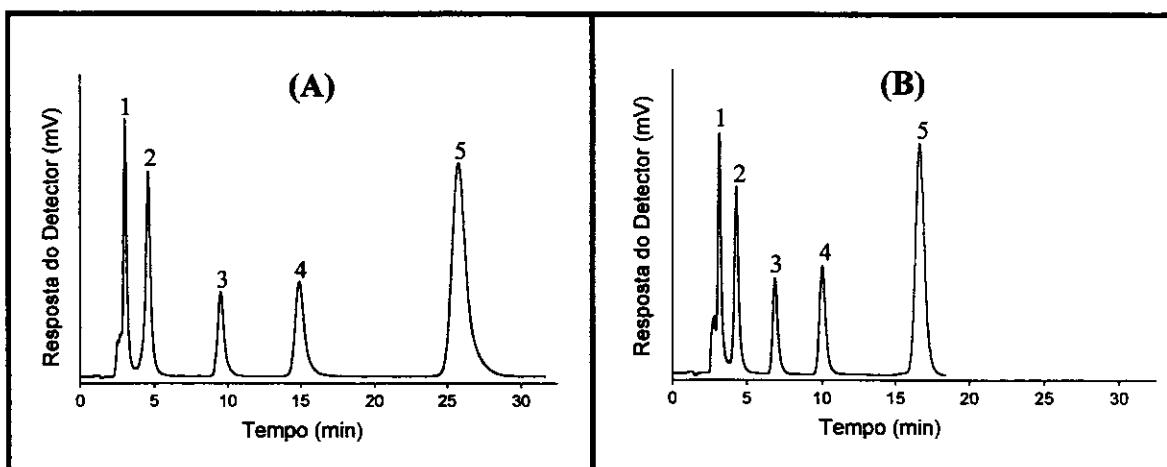


Figura 19 - Cromatogramas obtidos para as fases irradiadas por 1800 s na potência de 51 W: (A) Sem extração, (B) Com extração. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno.

Os resultados apresentados na *Tabela 13* foram de grande valia, pois mostraram que a etapa de resfriamento possibilita a utilização de tempos maiores de imobilização sem degradação da fase. O próximo passo foi então a investigação da influência da etapa de resfriamento na imobilização com potências altas. Fixou-se o tempo em 1800s e aumentou-se a potência.

4.5.4.4) 4º Estudo: Variação da Potência com Tempo de 1800 s

Foram testadas potências na faixa de 386 a 653 W com tempo de imobilização de 1800 s. Neste estudo, ao invés de 180 s, o intervalo de imobilização foi de 120 s, para garantir que a fase não degradaria. A *Tabela 14* apresenta os valores dos parâmetros cromatográficos para essas fases imobilizadas.

Na imobilização por microondas, uma maior quantidade de água no material faz com que a dissipação de energia seja grande, produzindo maior quantidade de calor⁽⁵⁰⁾, devido a isto, desde o início, as fases foram preparadas com sílica titanizada não-ativada, isto é, a água adsorvida na sílica titanizada foi mantida para que houvesse uma maior absorção da radiação. Com o objetivo de se diminuir essa dissipação de energia, utilizou-se sílica titanizada ativada na preparação de uma fase irradiada na potência de 586 W por 1800 s. Os resultados obtidos são mostrados na *Tabela 14*.

Tabela 14 – Influência da potência de irradiação nos parâmetros cromatográficos das fases com tempo de irradiação de 1800 s, intervalo de resfriamento de 120 s e intervalo de imobilização 120 s.

Coluna	Potência (W)	t_R^* (min)	k^*	N/m^* (m^{-1})	As^*	R_s^{**}
I	653	32,5	11,0	58000±400	1,3	4,2
II	586	31,6	11,5	76700±300	0,9	4,3
III	586 ^A	20,4	6,0	71900±300	2,1	2,8
IV	520	41,6	15,0	86500±700	0,8	6,2
V	452	25,1	7,7	55000±300	1,1	3,7
VI	386	30,4	9,8	56700±200	1,0	2,8

* Calculado para o naftaleno, ** Calculado para o par acetona-benzonitrila

^A Fase preparada com sílica titanizada ativada.

OBS: uma linha corresponde à média de três injeções.

A coluna IV apresentou a maior eficiência em relação a todas as colunas testadas neste trabalho e foi também a que apresentou maior fator de retenção. A análise elementar de carbono da fase após o desempacotamento indicou uma porcentagem final de PBD de 25,3%. Essa grande quantidade de PBD formou uma camada com espessura de 1,1 nm na superfície do suporte, valor superior aos determinados para as outras fases. Nos outros testes com alto tempo de imobilização, a incorporação de PBD também foi alta, entretanto, como o aquecimento era contínuo, ocorria degradação da fase, levando a baixas eficiências. Neste caso, o intervalo de resfriamento possibilitou a formação de uma camada mais espessa de PBD sem que a fase degradasse.

Como pode ser observado nas *Figuras 20B* e *20C*, a coluna III preparada com SiTi ativada apresentou tempo de análise inferior à coluna II preparada com SiTi não-ativada, entretanto, sua assimetria foi bastante alta comprovando que a água adsorvida na sílica titanizada exerce um papel fundamental na imobilização por microondas. O fator de retenção do naftaleno

na fase com suporte ativado é bem inferior, indicando que a incorporação do PBD foi menor neste suporte, justamente devido a menor absorção da irradiação microondas por esta fase.

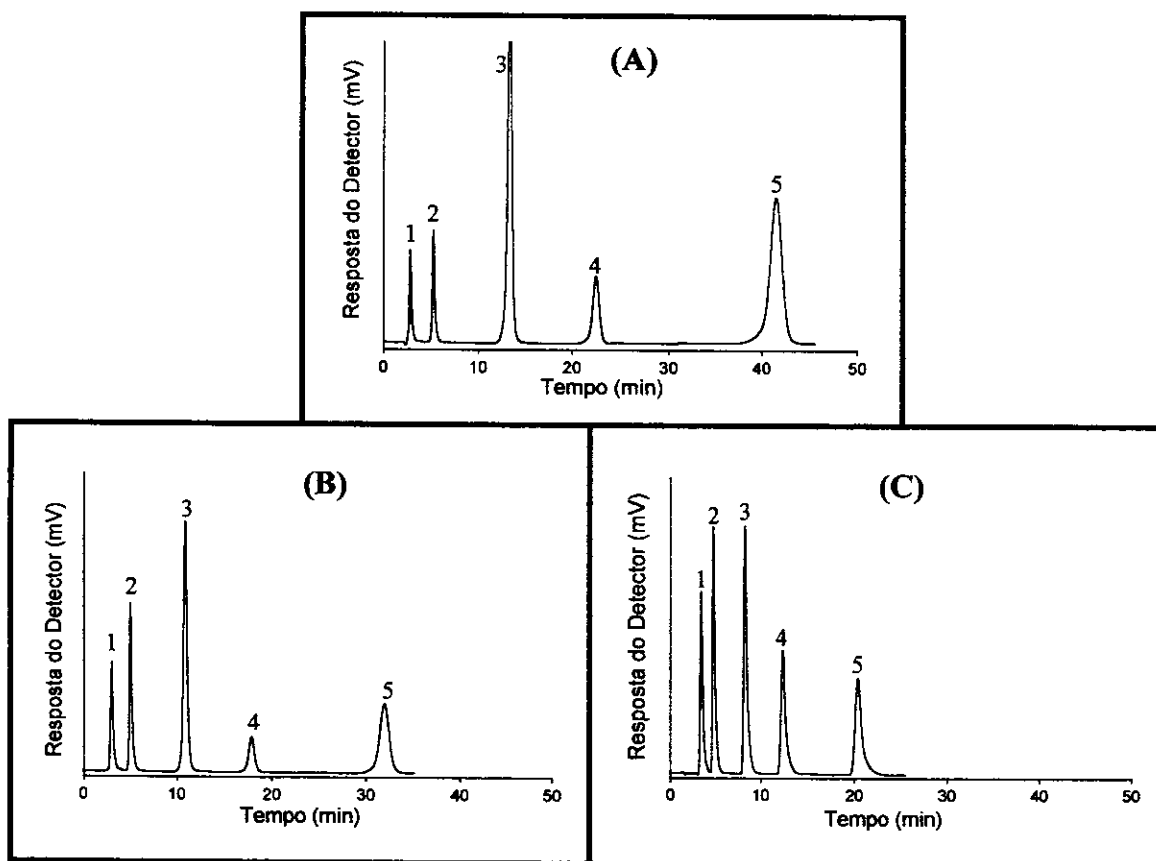


Figura 20 - Cromatogramas obtidos para as fases irradiadas por 1800s nas potências: (A) $P = 520$ W, (B) $P = 586$ W sem ativação, (C) $P = 586$ W com ativação. Condições cromatográficas: vazão $0,2 \text{ mL min}^{-1}$; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção $10 \text{ }\mu\text{L}$; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 1: (1) acetona, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno.

A fase irradiada na potência de 586 W (*Figura 20B*) também apresentou eficiência superior à da fase auto-imobilizada, com tempo de análise inferior ao da coluna de 520 W, por isso, tentou-se melhorar a eficiência das fases

irradiadas com potência de 586 W, variando-se o intervalo e tempo de imobilização.

4.5.4.5) 5º Estudo: Variação do Tempo e Intervalo de Imobilização com potência 586 W

Foram testados tempos de imobilização de 1200 e 2400 s na potência de 586 W e intervalo de imobilização de 120 s. Os parâmetros estão apresentados na *Tabela 15*. Nesta tabela são mostrados também os parâmetros da coluna II para comparação.

Tabela 15 – Influência do tempo e intervalo de imobilização nos parâmetros cromatográficos fixando-se a potência do forno de MO em 586 W e o intervalo de resfriamento em 120 s.

Condição Variada	Tempo (s)	Intervalo de imobilização (s)	t_R^* (min)	k^*	N/m^* (m^{-1})	As^*	R_s^{**}
-	1800	120	31,6	11,5	76700±300	0,9	4,3
Intervalo de imobilização	1800	60	47,2	17,1	77000±500	1,0	5,1
	1800	180	40,4	13,9	68200±600	0,9	5,6
Tempo de imobilização	1200	120	39,2	14,0	41400±1100	0,9	4,7
	2400	120	39,2	13,0	71200±900	1,0	5,5

* Calculado para o naftaleno, ** Calculado para o par acetona-benzonitrila

OBS: uma linha corresponde à média de três injeções.

A variação do intervalo e tempo de imobilização causou um aumento no tempo de análise e nenhum aumento significativo de eficiência em relação à coluna II foi observado.

4.5.5) Avaliação de Fases Auto-Imobilizada e Imobilizada por Radiação Microondas com a Mistura Teste 2 .

A mistura teste 2, contendo o composto básico, N,N-dimetilanilina, foi utilizada para as colunas que apresentaram os melhores desempenhos cromatográficos, tanto para a fase estacionária auto-imobilizada (carga inicial de 40% de PBD) quanto para a fase estacionária imobilizada por radiação microondas (1800 s na potência 586 W). Os parâmetros cromatográficos estão mostrados na *Tabela 16*.

Tabela 16 – Parâmetros cromatográficos obtidos na análise da mistura 2 com as fases estacionárias auto-imobilizada e imobilizada por 1800 s na potência de 586 W.

Coluna	Tempo (s)	Potência (W)	t_R^* (min)	k^*	N/m^* (m^{-1})	As^*	R_s^{**}
I	0	0	19,6	6,5	3926 ± 700	3,3	1,4
II	1800	586	9,8	2,1	31700 ± 300	1,7	3,8

* Calculado para N,N-dimetilanilina, ** Calculado para o par naftaleno-N,N-dimetilanilina
OBS: uma linha corresponde à média de três injeções.

Observa-se na *Tabela 16* que a fase imobilizada por radiação microondas (coluna II) apresentou desempenho cromatográfico superior ao da fase auto-imobilizada.

Como esperado, a imobilização por radiação microondas promoveu um maior recobrimento dos grupos hidroxilas do suporte cromatográfico pelo PBD, minimizando dessa forma, a interação destes grupos com o composto básico N,N-dimetilanilina. Isto pode ser confirmado através da comparação entre os cromatogramas da *Figura 21*.

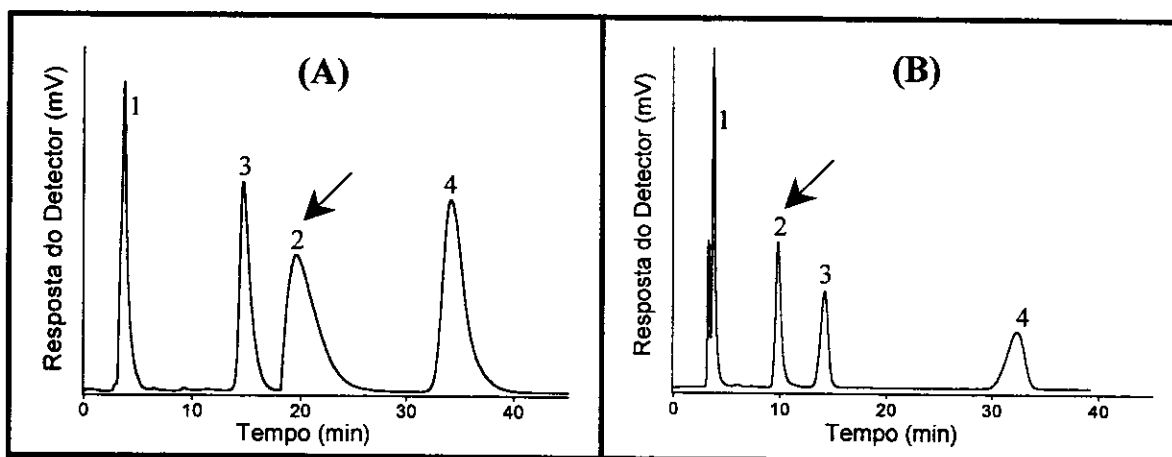


Figura 21 - Cromatogramas obtidos na análise da mistura teste 2: (A) Fase auto-imobilizada com carga inicial de 40% de PBD e (B) Fase imobilizada por 1800 s na potência 586 W. Condições cromatográficas: vazão 0,2 mL min⁻¹; FM MeOH:H₂O 60:40 v/v; volume de injeção 10 µL; detecção UV, 254 nm; Mistura teste 2: (1) fenol, (2) naftaleno, (3) N,N-dimetilanilina, (4) acenafteno.

Na coluna I com fase auto-imobilizada a retenção da N,N-dimetilanilina foi maior, justamente devido a interação deste composto com os grupos hidroxilas do suporte que se encontravam mais expostos nesta fase. Como pode ser observado na figura e na tabela, essa interação com os grupos hidroxilas resultou no alargamento do pico da N,N-dimetilanilina, que apresentou fator de assimetria de 3,3.

Na fase imobilizada por radiação microondas o recobrimento do suporte foi maior, isto é, havia uma menor quantidade de grupos hidroxilas expostos para adsorver a N,N-dimetilanilina o que resultou num menor tempo de retenção, maior eficiência e simetria deste pico.

Deve-se ressaltar que o cromatograma da fase imobilizada por radiação microondas foi obtido após o estudo de estabilidade química dessa coluna com a passagem de 10500 volumes de coluna de fase móvel alcalina e por isso o

tempo de retenção do naftaleno foi menor do que o apresentado no cromatograma da *Figura 20B*.

4.6) Estabilidade Química das Fases Estacionárias Auto-Imobilizadas e Imobilizadas por Radiação Microondas.

A estabilidade das colunas foi testada passando-se quantidades de fase móvel expressas em volumes de coluna. Em intervalos pré-determinados parava de passar a FM usada no teste de estabilidade e analisava a coluna através da injeção da mistura teste 1, em triplicata, as fases móveis usadas nos testes de estabilidade estão descritas na *Tabela 17*.

Tabela 17 – Composição das fases móveis usadas nos testes de estabilidade.

Coluna	Tempo (s)	Potência (W)	Fase Móvel
I	0	0	MeOH:H ₂ O 60:40 v/v
II	1800	520	MeOH:H ₂ O 60:40 v/v
III	1800	586	MeOH:H ₂ O 60:40 v/v
IV	1800	586	MeOH:(NaOH _(aq.)), pH 9 60:40 v/v

Para as colunas I, III e IV o teste foi feito com a coluna recém recheada, isto é, logo após o enchimento. O teste com a coluna II foi feito após dois meses do seu enchimento, sendo que durante este período ela foi constantemente avaliada com 3 injeções por dia.

A avaliação da coluna IV com fase móvel básica foi realizada num sistema cromatográfico com injeção automática, sendo feita em intervalos de tempo menores. Os gráficos das *Figuras 22-25* mostram as variações nos valores de eficiência, fator de assimetria e fator de retenção em função do volume de fase móvel que passou nas quatro colunas avaliadas.

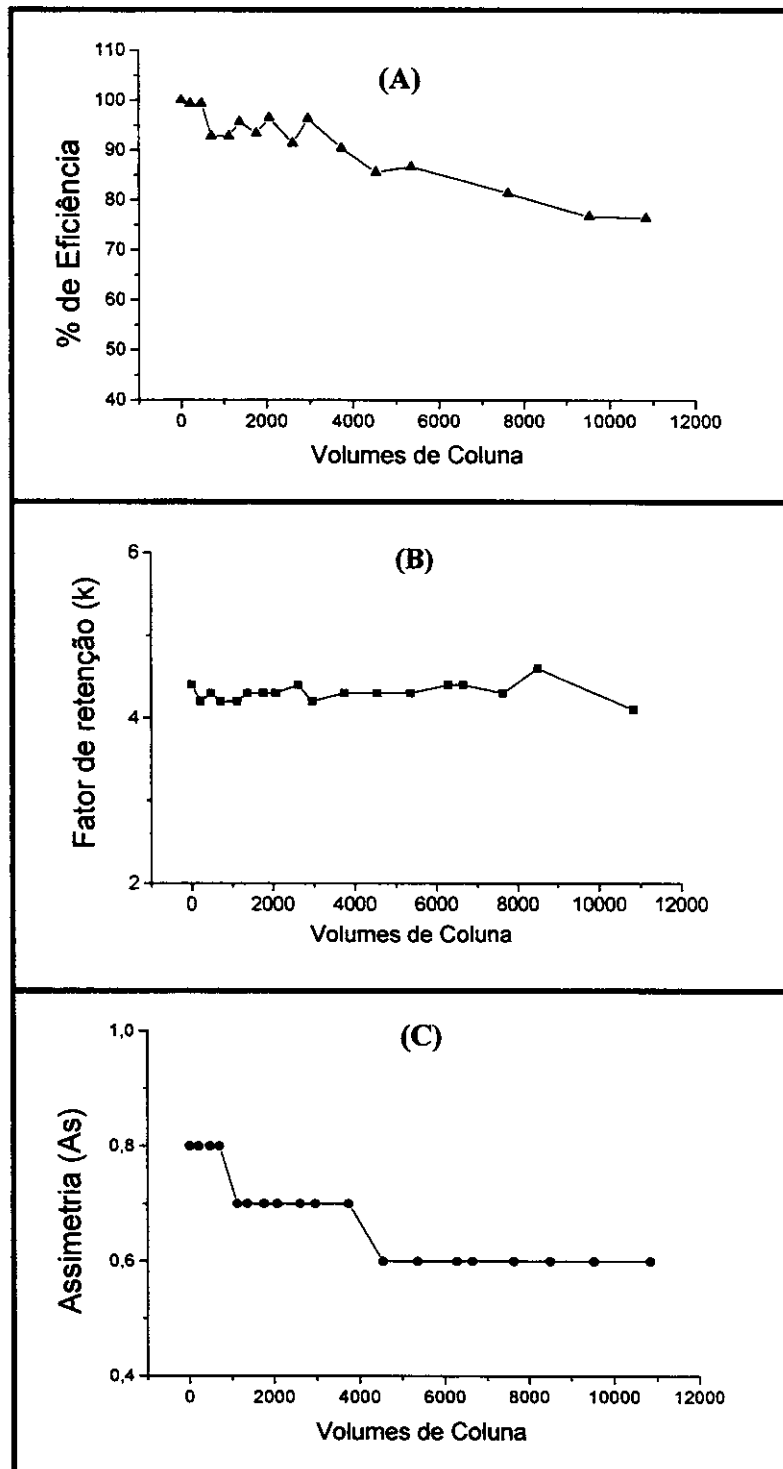


Figura 22 – Teste de estabilidade da fase auto-imobilizada com carga inicial de 40% (Coluna I) utilizando FM MeOH:H₂O 60:40 v/v (A) eficiência (N/m); (B) fator de retenção e (C) fator de assimetria.

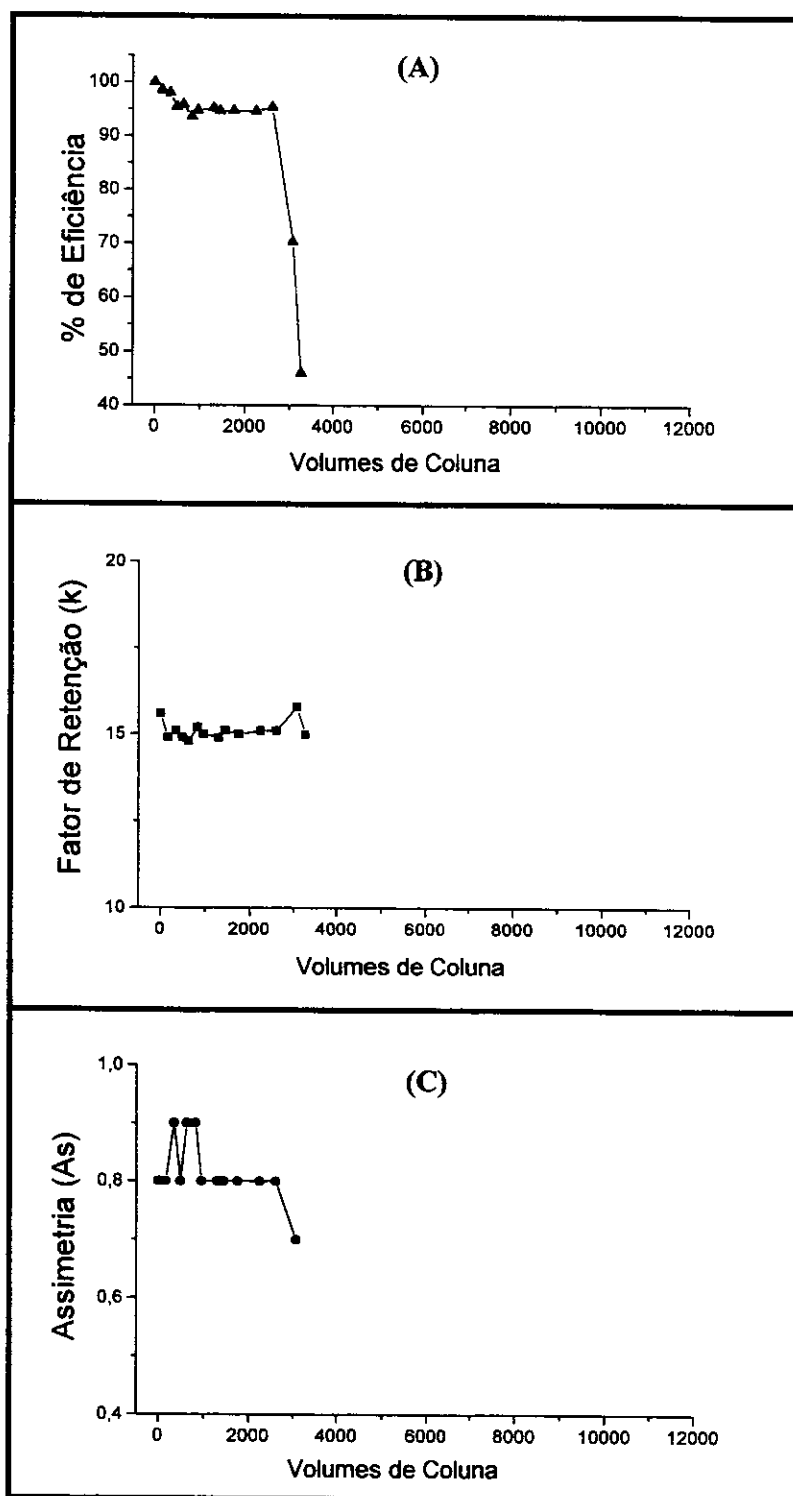


Figura 23 – Teste de estabilidade da fase imobilizada por 1800 s na potência 520 W (coluna II), utilizando FM MeOH:H₂O 60:40 v/v. (A) eficiência (N/m); (B) fator de retenção e (C) fator de assimetria.

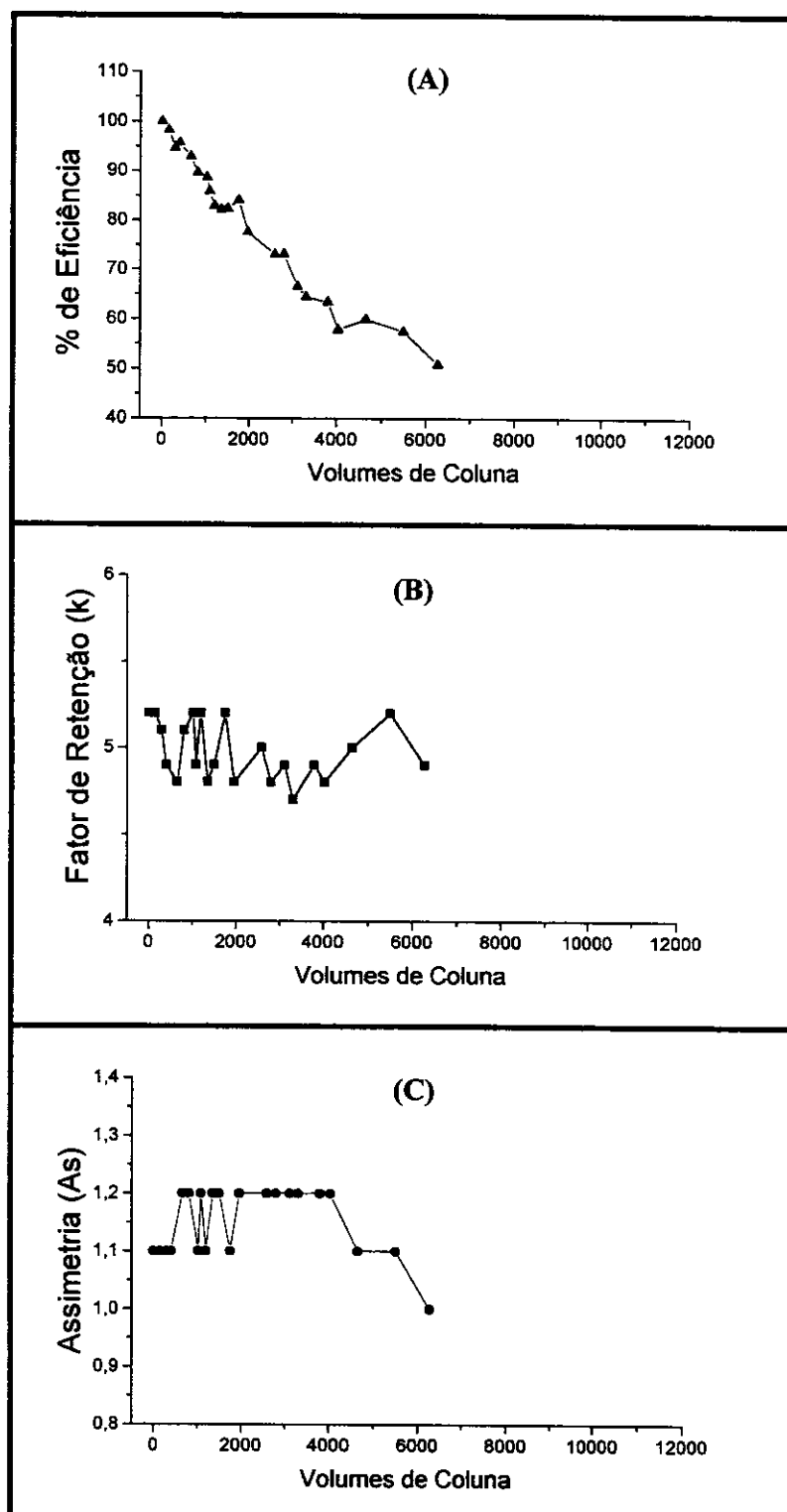


Figura 24 – Teste de estabilidade da fase imobilizada por 1800 s na potência 586 W (coluna III), utilizando FM MeOH:H₂O 60:40 (v/v). (A) eficiência (N/m); (B) fator de retenção e (C) fator de assimetria.

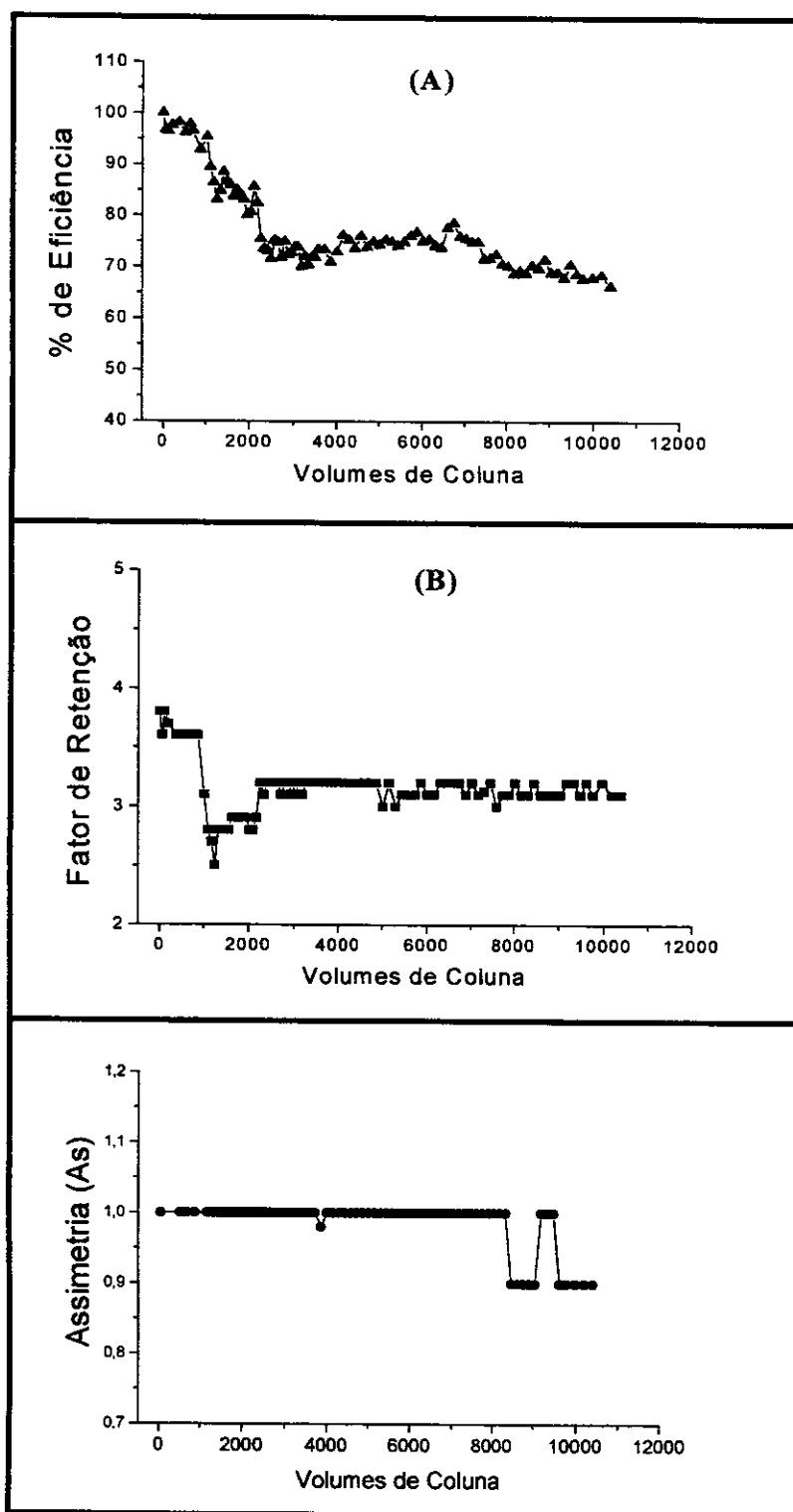


Figura 25 – Teste de estabilidade da fase imobilizada por 1800 s na potência 586 W (coluna IV), utilizando FM MeOH:(NaOH_(aq.)), pH 9 60:40 (v/v). (A) eficiência (N/m); (B) fator de retenção e (C) fator de assimetria.

Analisando os gráficos das *Figuras 22 a 25*, observa-se que a coluna II mantém uma eficiência estável até 3000 volumes de coluna, quando sofre uma queda abrupta. A coluna III já no início da passagem da fase móvel começa a apresentar uma queda gradual de eficiência, que atinge 50% após a passagem de fase móvel correspondente a 6000 volumes de coluna.

Comparando-se os gráficos de eficiência das colunas testadas com fase móvel neutra, percebe-se que a fase auto-imobilizada é mais estável do que as fases imobilizadas por radiação microondas, pois ela apresentou queda de 25% na eficiência após a passagem de fase móvel correspondente a 12000 volumes de coluna, entretanto, sua assimetria caiu de 0,8 para 0,6, dessa forma o teste foi interrompido.

A coluna IV apresentou uma queda de eficiência de 44% com a passagem de fase móvel básica correspondente a 10500 volumes de coluna. Dentre as três fases imobilizadas, esta foi a que apresentou maior estabilidade. Embora não se tenham os testes de estabilidade de uma coluna recheada com PBD imobilizado por irradiação microondas sobre a sílica nua para compará-la com as fases estacionárias imobilizadas com sílica titanizada, pode-se dizer, analisando os resultados da coluna III e IV, que a titanização do suporte aumentou a estabilidade da fase estacionária frente a fases móveis básicas, pois os três parâmetros cromatográficos obtidos para a coluna IV permaneceram mais estáveis que os da coluna III.

4.7) Considerações Gerais sobre o Trabalho

O objetivo principal deste trabalho foi determinar a melhor condição de imobilização por microondas de fases estacionárias baseadas em sílica titanizada e polibutadieno. Para atingir este objetivo, a maior parte do trabalho desenvolvido no laboratório consistiu na preparação e imobilização das fases estacionárias em várias condições de tempo e potência do microondas, como foi apresentado. A melhor condição de imobilização foi encontrada. Entretanto, observou-se que a variação de outros fatores também influencia nos resultados obtidos:

- diferentes lotes ou grau de pureza dos solventes utilizados nas diversas etapas do trabalho: como descrito no item 3.4, as fases estacionárias foram preparadas com hexano grau cromatográfico, a evaporação deste solvente na capela levava 2 dias e aguardava-se mais 4 dias para o processo de auto-imobilização das fases. Foi preparado então um lote de fase estacionária com hexano grau p.a.. Neste caso, após 6 dias o solvente ainda não havia evaporado, após 8 dias a fase estava aparentemente seca, porém completamente pastosa. No décimo dia, ainda com consistência pastosa, tentou-se preparar a suspensão de enchimento com esta fase, o que não foi possível, pois a fase não dissolveu no clorofórmio. A explicação para esta diferença pode parecer óbvia, as fases estacionárias são preparadas com solventes grau cromatográfico justamente pela sua maior pureza.

Outra constatação ocorreu na modificação da sílica com titânia. Os três primeiros lotes de sílica titanizada foram preparados com butanol proveniente da Planta Piloto do Instituto de Química da UNICAMP, onde alguns solventes descartados são tratados. O teor de titânio em cada um destes três lotes de

sílica titanizada preparados em períodos diferentes foi de 8,9%, isto é, foi obtida uma grande reprodutibilidade. Na preparação do quarto lote, foi utilizado butanol grau p.a. da marca Vetec, pois não havia mais butanol proveniente da planta piloto. O teor de titânio neste lote foi de 6,0%, pensou-se então que essa diminuição no teor de titânio ocorreu devido a mudanças no manuseio durante a titanização. Foram preparados, em sequência, mais dois lotes (5º e 6º), e os teores de titânio foram de 5,3 e 7,3%. O quinto lote foi preparado com reagente tetrabutóxido de titânio de um frasco novo, recém aberto; e também no sexto foi utilizado ácido nítrico novo. Para o oitavo lote foi conseguido um frasco de 1 L de butanol da Planta Piloto, e o teor de titânio foi de 9,1%. Para confirmar que a procedência do butanol foi o responsável pela diferença do teor de titânio, foi preparado um 9º lote e o teor de titânio foi de 9,0%. Deve se ressaltar que todos os resultados apresentados neste trabalho foram obtidos com os três primeiros lotes e o oitavo lote que foi denominado de SiTi4.

- troca da bomba de enchimento: Na etapa de otimização das condições de irradiação no microondas até a obtenção das melhores fases, as colunas foram recheadas em uma bomba de enchimento da marca Haskel, que apresentou problemas e foi substituída por outro modelo da mesma marca, entretanto esta última também apresentou avarias e foi substituída por uma bomba de enchimento de outra da marca, Alltech. Para a conclusão deste trabalho faltava ainda a preparação das melhores fases imobilizadas e da fase auto-imobilizada para os testes de estabilidade. Pretendia-se também preparar fases baseadas em sílica nua imobilizada por radiação microondas, para testar sua estabilidade e comparar com as fases baseadas em sílica titanizada. Durante seis meses foram preparados diversos lotes de fases que foram imobilizadas

nas melhores condições e não se conseguiu reproduzir os mesmos resultados, isto é, as condições otimizadas na primeira bomba Haskel, já não eram válidas quando começou a se utilizar a bomba Alltech. A obtenção de fases nas condições otimizadas, com desempenho cromatográfico aceitável, para os testes de estabilidade foi demorada, impossibilitando a execução dos testes previstos com sílica nua.

5) CONCLUSÃO

O procedimento utilizado para a modificação da sílica com titânia mostrou-se mais simples e eficiente em relação aos procedimentos descritos na literatura^(56,61), tendo-se obtido altas porcentagens de titânio incorporado à sílica (8,9%).

Através da avaliação das fases estacionárias auto-imobilizadas preparadas com sílica nua e titanizada, foi comprovado que a incorporação do titânio à sílica por si só, proporciona uma melhora no desempenho cromatográfico das fases estacionárias, mesmo sem a imobilização do polímero.

Os espectros no infravermelho mostraram que houve incorporação do polímero na sílica titanizada e as análise elementar de carbono comprovou que essa incorporação foi maior nas fases imobilizadas.

A etapa de otimização das condições de imobilização no forno de microondas foi laboriosa, pois um tempo de imobilização baixo não exerce efeito sobre a fase, enquanto que um tempo longo e contínuo provoca a degradação da fase estacionária. Com a etapa de resfriamento, foi possível aumentar o tempo de imobilização e promover um maior recobrimento do suporte, sem que ocorresse degradação da fase.

A melhor condição encontrada para a imobilização do PBD na sílica titanizada foi: potência 520 W com tempo de irradiação de 1800 s e intervalos de irradiação e resfriamento de 120 s. A eficiência dessa fase foi de 86500 N/m.

O fator de assimetria do composto básico N,N-dimetilanilina foi de 3,3 na coluna auto-imobilizada e 1,7 na coluna imobilizada por radiação microondas. Estes resultados mostraram que a imobilização do polímero por

radiação microondas promoveu um maior recobrimento do suporte, pois reduziu as interações do soluto básico com os grupos hidroxilas do suporte cromatográfico.

A partir dos testes de estabilidade, embora não se tenha obtido a estabilidade desejada para as fases estacionárias preparadas, verificou-se que realmente a titanização aumenta a estabilidade da coluna frente a fases móveis básicas.

A radiação microondas é uma técnica de imobilização versátil e de baixo custo que apresenta potencialidade na preparação de fases estacionárias e dessa forma deve ser submetida a novos estudos.

6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; “Princípios de Análise Instrumental”, 5ª Ed., Bookman, Porto Alegre, 2002.
- 2) Braithwaite, A.; Smith, F. J., “Chromatographic Methods”, 4th Ed., Chapman and Hall, London, 1985.
- 3) Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S.; coordenadores, “Introdução a Métodos Cromatográficos”, 4ª Ed., Editora da UNICAMP, Campinas, 1990.
- 4) Poole, C. F.; Schuette, S. A., “Contemporary Practice of Chromatography”, Elsevier Science Publishing, New York, 1984.
- 5) Brown, P. R.; Weston, A., “HPLC and CE Principles and Practice”, Academic Press, London, 1997.
- 6) Petro, M; Berek, D., “Polymers Immobilized on Silica Gels as Stationary Phases for Liquid Chromatography”, *Chromatographia*, 37 (1993) 549.
- 7) Majors, R. E., “Twenty-Five Years of HPLC Column Development – A Commercial Perspective”, *LC-GC*, 12 (1994) 508.
- 8) McNeff, C.; Zigan, L.; Johnson, K.; Carr, P. W.; Wang, A.; Weber-Main, A. M., “Analytical Advantages of Highly Stable Stationary Phases for Reversed-Phase LC”, *LC-GC*, 18 (2000) 515.
- 9) Nawrocki, J., “The Silanol Group and Its Role in Liquid Chromatography”, *J. Chromatogr. A*, 779 (1997) 29.
- 10) Berthod, A., “Silica: Backbone Material of Liquid Chromatographic Column Packings”, *J. Chromatogr.*, 1 (1991) 549.
- 11) Tonhi, E.; Collins, K. E.; Jardim, I. C. S. F.; Collins, C. H., “Fases Estacionárias Para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa (CLAE – FR) baseadas em Superfícies de Óxidos Inorgânicos Funcionalizados”, *Quím. Nova*, 25 (2002) 616.

- 12) Bottoli, C. B. G.; Chaudhry, Z. F.; Fonseca, D. A.; Collins, K. E.; Collins, C. H., "Poly(alkylmethylsiloxanes) Thermally Immobilized on Silica as Stationary Phases for High-Performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr. A*, 948 (2002) 121.
- 13) Anazawa, T. A.; Jardim, I. C. S. F., "Polymethyloctilsiloxane Adsorbed on Porous Silica as a Packing Material for Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography", *J. Liq. Chromatogr.*, 17 (1994) 1265.
- 14) Bottoli, C. B. G., "Sorção, Imobilização e Extração de Polissiloxanos em Sílicas Porosas para Uso em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência", Tese de Doutorado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 2002.
- 15) Lopes, N. P.; Collins, K. E.; Jardim, I. C. S. F., "Preparation of a Polybutadiene Stationary Phase Immobilized by γ Radiation for Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr. A*, 987 (2003) 77.
- 16) Zhuravlev, L. T., "The Surface Chemistry of Amorphous Silica. Zhuravlev Model", *Colloids Surface A*, 173 (2000) 1.
- 17) Poole, C. F.; Poole, S. K., "Chromatography Today", Elsevier Science Publishers, B. V., Amsterdam, 1991.
- 18) Kirkland, J. J.; Dilks, J. C. H.; Henderson, J. W., "Technologies for an Improved C-18 Stationary Phase in Reversed-Phase HPLC Separations", *LC-GC*, 11 (1993) 290.
- 19) Majors, R. E., "Stationary-Phase Technology in Separation Science", *LC-GC*, 18 (2000) 1214.
- 20) Pesek, J. J.; Tang, V. H., "The Modification of Alumina, Zirconia, Thoria and Titania for Potential Use as HPLC Stationary Phases Through a Silanization/Hydrosilation Reaction Scheme", *Chromatographia*, 39 (1994) 649.
- 21) Winkler, J.; Marmé, S., "Titania as a Sorbent in Normal-Phase Liquid Chromatography", *J. Chromatogr. A*, 888 (2000) 51.

- 22) Tani, K.; Sumizawa, T.; Watanabe, M.; Tachibana, M.; Koizumi, H.; Kiba, T., "Evaluation of Titania as an Ion-Exchanger and as a Ligand-Exchanger in HPLC", *Chromatographia*, 55 (2002) 33.
- 23) Buchmeiser, M. R., "New Synthetic Ways for the Preparation of High-Performance Liquid Chromatography Supports", *J. Chromatogr. A*, 918 (2001) 233.
- 24) Silva, R. B.; Collins, C. H., "Chromatographic Evaluation of Radiation-Immobilized Poly(methyloctylsiloxane) on Titanium-Grafted Silica", *J. Chromatogr. A*, 845 (1999) 417.
- 25) Silva, R. B.; Gushikem, Y.; Collins, C. H., Synthesis, Characterization, and Chromatographic Evaluation of Titanium Tetrabutoxide-Modified Silica as a Support for HPLC-RP Separations in Alkaline Mobile Phases, *J. Sep. Sci*, 24 (2001) 49.
- 26) Silva, R. B.; Collins, K. E.; Collins, C. H., "Effects in High-Performance Liquid Chromatography of a High pH in the Mobile Phase on Poly(methyloctylsiloxane) Immobilized by γ -Radiation on Titanium-Grafted Silica", *J. Chromatogr. A*, 869 (2000) 137.
- 27) Melo, L. F. C.; Collins, C. H.; Collins, K. E.; Jardim, I. C. S. F., "Stability of High-Performance Liquid Chromatography Columns Packed with Poly(methyloctylsiloxane) Sorbed and Radiation-Immobilized Onto Porous Silica and Zirconized Silica", *J. Chromatogr. A*, 869 (2000) 129.
- 28) Melo, L. F. C.; Jardim, I. C. S. F., "Development of C₈ Stationary Phases Immobilized by γ Radiation on Zirconized Silica for High-Performance Liquid Chromatographic Applications", *J. Chromatogr. A*, 845 (1999) 423.
- 29) Kapor, M. A., "Preparação de Fases Estacionárias SiO₂(PMOS), Imobilizadas por Microondas para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência", Dissertação de Mestrado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 2001

- 30) Kricheldorf, H. R., "Handbook of Polymer Synthesis", Vol. A, Marcel Dekker, New York, 1992.
- 31) Hampton, R. R., "Infrared Analysis of Low Temperature Polymers", *Anal. Chem.*, 21 (1949) 923.
- 32) Sun, L.; McCormick, A. V.; Carr, P. W., "Study of the Irreversible Adsorption of Proteins on Polybutadiene-Coated Zirconia", *J. Chromatogr. A*, 658 (1994) 465.
- 33) Li, J.; Carr, P. W., "Retention Characteristics of Polybutadiene-Coated Zirconia and Comparison to Conventional Bonded Phases", *Anal. Chem.*, 68 (1996) 2857.
- 34) Li, J.; Reeder, D. H.; McCormick, A. V.; Carr, P. W., "Factors Influencing Polybutadiene Deposition Within Porous Chromatographic Zirconia", *J. Chromatogr. A*, 791 (1997) 45.
- 35) Li, J.; Hu, Y.; Carr, P. W., "Fast Separations at Elevated Temperatures on Polybutadiene-Coated Zirconia Reversed-Phase Material", *Anal. Chem.*, 69 (1997) 3884.
- 36) Reeder, D. H.; Li, J.; Carr, P. W.; Flickinger, M. C.; McCormick, A. V., "Models for Polybutadiene Pore Wall Coatings in Porous Zirconia", *J. Chromatogr. A*, 760 (1997) 71.
- 37) Li, J.; Carr, P. W., "A Study of the Efficiency of Polybutadiene-Coated Zirconia as a Reversed-Phase Chromatographic Support", *Anal. Chem.*, 69 (1997) 2193.
- 38) Hanson, M.; Eray, B.; Unger, K.; Neimark, A. V.; Schmid, J.; Albert, K.; Bayer, E., "A Model for Polybutadiene Coatings on Porous Silica", *Chromatographia*, 35 (1993) 403.
- 39) Hanson, M.; Unger, K. K.; Schomburg, G., "Non-porous Polybutadiene-Coated Silicas as Stationary Phases in Reversed-Phase Chromatography", *J. Chromatogr.*, 517 (1990) 269.
- 40) Sanseverino, A. M., "Microondas em Síntese Orgânica", *Quim. Nova*, 25 (2002) 660.

- 41) Cresswell, S. L.; Haswell, S. J., "Microwave Ovens – Out of the Kitchen", *J. Chem. Educ.*, 78 (2001) 900.
- 42) Kingston, H. M.; Jassie, L. B., "Introduction to Microwave Sample Preparation", ACS Professional Reference Book, Washington, DC, 1988.
- 43) Collins, C. H.; de Aquino Neto, F. R.; da Silva, J. R. P., Terminologia em Cromatografia. Parte II. Símbolos para Cromatografia", *Quim. Nova*, 12 (1989) 92.
- 44) Neue, U. D., "HPLC Columns: Theory, Technology and Practice", Wiley-VCH, New York, 1997.
- 45) Dolan, J. W.; Snyder, L. R., "Troubleshooting LC Systems", The Humana Press Inc., Clifton, New Jersey, 1989.
- 46) Snyder, L. R.; Kirkland, J. J., "Introduction to Modern Liquid Chromatography", John Wiley & Sons, New York, 1979.
- 47) Snyder, L. R.; Kirkland, J. J.; Glajch, J. L., "Practical HPLC Method Development", 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1997.
- 48) Collins, K. E.; Franchon, A. C.; Jardim, I. C. S. F.; Radovanovic, E.; Gonçalves, M. C., "The Effects of Inner Surface Roughness of Microbore Column Blanks on Column Performance", *LC-GC*, 18 (2000) 106.
- 49) Murtele, R. B.; Collins, K. E.; Fonseca, D. A.; Collins, C. H., "Preparação e Caracterização de Sílica Titanizada para Aplicações Cromatográficas", 25^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, MG, 2002, QA-104.
- 50) Barboza, A. C. R. N.; Cruz, C. V. M.; Graziani, M. B.; Lorenzetti, M. C. F.; Sabadini, E., "Aquecimento em Forno de Microondas/Desenvolvimento de Alguns Conceitos Fundamentais", *Quim. Nova*, 24 (2001) 901.
- 51) Pereira Filho, E. R., "Sistemas Mecanizados Acoplados a Forno de Microondas para a Mineralização em Linha de Amostras de Interesse Alimentício: Determinação de Ferro e Cobalto", Dissertação de Mestrado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1999.

- 52) Pereira Filho, E. R.; Rohwedder, J. J. R.; Arruda, M. A. Z., "On-Line Microwave Slurry Sample Digestion Using Flow Systems for the Spectrophotometric Determination of Iron in Seafood", *Analyst*, 123 (1998) 1023.
- 53) Lopes, N. P., Collins, K. E., Jardim, I. C. S. F., "A Microwave Immobilized Polybutadiene Stationary Phase for Reversed Phase HPLC", *J. Chromatogr. A*, submetido.
- 54) Majors, R. E., "Slurry Packing Microparticulate Columns", *LC-GC*, 2 (1984) 502.
- 55) Anazawa, T. A., "Imobilização por Radiação Gama de Fase Estacionária Líquida Sobre Suporte de Sílica para Uso em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)", Dissertação de Mestrado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 1992.
- 56) Kubota, L. T.; Gushiken, Y.; Castro, S.; Moreira, J. C., "Preparation and Characterization of Ti(IV) Oxide Grafted onto Silica on a Silica Gel Surface", *Colloids and Surfaces*, 57 (1991) 11.
- 57) Schrijnemakers, K.; Impens, N. R. E. N.; Vansant, E. F., "Deposition of a Titania Coating on Silica by Means of the Chemical Surface Coating", *Langmuir*, 15 (1999) 5807.
- 58) Ellestad, O. H.; Blindheim, U., "Reactions of Titanium Tetrachloride with Silica-gel Surfaces", *J. Mol. Catal.*, 33 (1985) 275.
- 59) Fernandez, A.; Leyrer, J.; González-Elipé, A. R.; Munuera, G.; Knözinger, H., "Spectroscopic Characterization of TiO₂/SiO₂ Catalysts", *J. Catal.*, 112 (1988) 489.
- 60) Haukka, S.; Lakomaa, E. L.; Root, A., "An IR and NMR Study of the Chemisorption of TiCl₄ on Silica", *J. Phys. Chem.*, 97 (1993) 5085.
- 61) Retuert, J.; Quijada, R.; Fuenzalida, V. M., "Titania Coatings on High and Low Surface Area Spherical Silica Particles by a Sol-Gel Method", *J. Mat. Chem.*, 10 (2000) 2818.

- 62) Chum, H.; Yizhong, W.; Hongxiao T., "Preparation and Characterization of Surface Bond-Conjugated $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ and Photocatalysis for Azo Dyes", *Appl. Catal. B – Environ.*, 30 (2001) 277.
- 63) Silva, R. B., "Preparação de Fases Estacionárias para CLAE a Partir de Poli(metiloctilsiloxano) sobre a Sílica Titanizada", Tese de Doutorado, Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 2001.
- 64) Castillo, R.; Koch, B; Ruiz, P.; Delmon, B., "Influence of the Amount of Titania on the Texture and Structure of Titania Supported on Silica", *J. Catal.*, 161 (1996) 524.
- 65) Emili, M.; Incoccia, L.; Mobílio, S.; Fagherazzi, G.; Guglielmi, M., "Structural Investigations of $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$ Glassy and Glass-Ceramic Materials Prepared by the Sol-Gel Method", *J. Non-Crystalline Solids*, 74, (1985), 129.
- 66) Watanabe, N.; Ramos, A. Y.; Alves, M. C. M.; Tolentino, H.; Alves, O. L.; Barbosa, L. C., "Titanium environment in $\text{TiO}_2\text{-BaO-ZnO-B}_2\text{O}_3$ Glasses by X-ray Absorption Spectroscopy", *J. Mater. Res.*, 15 (2000) 793.
- 67) Ruiz-López, M. F.; Muñoz-Paez, A., "A Theoretical Study of the XANES, Spectra of Rutile and Anatase", *J. Phys: Condens. Matter*, 3 (1991) 8981.
- 68) Brydson, R.; Sauer, H.; Engel, W; Thomas, J. M.; Zeitler, E.; Kosugi, N.; Kurodai, H., "Electron Energy Loss and X-Ray Absorption Spectroscopy of Rutile and Anatase: a Test of Structural Sensitivity", *J. Phys.: Condens. Matter.*, 1 (1989) 797.
- 69) Stella, C; Rudaz, S.; Veuthey, J.-L.; Tchaplá, A., "Silica and Other Materials as Supports in Liquid Chromatography. Chromatographic Tests and their Importance for Evaluating these Supports. Part I", *Chromatographia*, 53 (2001) S-113.