
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

“Preparação de Fases Estacionárias Monolíticas em Capilares Revestidos com Poliacrilato para Aplicação em Eletrocromatografia Capilar”

Fernando Antonio Simas Vaz

Orientador: Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro

Dissertação apresentada ao
Departamento de Química da
Universidade Federal de Juiz de Fora
como parte dos requisitos necessários
para a obtenção do título de Mestre em
Química

DEDICATÓRIA

Este trabalho é exclusivamente dedicado à *Maysa Andreola de Queiroz*, sem a qual eu não teria concluído esta importante etapa da minha carreira. Fonte de constante inspiração, seu espírito vivaz e sonhador está presente nas entrelinhas desta dissertação.

“Sem saber que era impossível, ele foi lá e fez.”

Jean Cocteau

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS pela oportunidade bela de viver, com consciência, a vida.

Aos meus pais *Telma Simas Vaz* e *Ruy Pereira Vaz* pela compreensão e paciência com os meus tormentos diante de um computador ligado, às vezes, até as 4 horas da manhã. Aquilo não foi em vão!

Ao *Eduardo Simas Vaz* pelos ensinamentos sinceros de um irmão mais adulto. Sua filosofia de vida permeia meus pensamentos.

Ao *Cledson Lopes* pela amizade, respeito, apoio, aulas no computador e horas passadas jogando vídeo-game e tocando guitarra. A vida teria menos graça, se não fosse por ele.

Ao Professor *Marcone Augusto Leal de Oliveira* pela orientação desde minha monitoria em Química Analítica Instrumental na graduação, passando pelos Projetos de conclusão de curso e chegando ao Mestrado e por ter acreditado que o sucesso estaria logo adiante. E estava certo!

Ao Co-orientador Professor *Sidney José Lima Ribeiro* pela oportunidade de trabalhar por quatro meses em seu grupo de pesquisa no Instituto de Química da UNESP-Araraquara e pelo apoio dado durante minha estadia lá. Meu estágio me trouxe, além de conhecimento, amadurecimento e coragem.

Aos amigos *Gustavo* por me dar ouvidos quando precisava, *Hernane* e *Alberto* pelos ensinamentos de fé incondicional e *Vivian* por me fazer acordar aos ensolarados sábados, 6:30 da manhã para trabalhar, com prazer, no laboratório.

Ao *Celso Molina* pela instrução dada durante meu estágio na UNESP, aos integrantes do GQAQ (UFJF) *Adriana*, *Karina*, *Denise*, *Patrícia* e *Gláucia*, aos integrantes do GMF (UNESP) *Younes*, *César*, *Alexandre* e *Mateus* e demais colegas de laboratório que me deram qualquer tipo de apoio.

À minha avó *Alda*, contemplada com 94 anos de pura saúde, às madrinhas tia *Eduarda* e tia *do Carmo*, à tia *Auxiliadora* e demais familiares. Ao *Marco Polo*, *Fátima* e *Allan*.

E, por último, mas não menos importante, ao meu amável e eterno padrinho *Wilmar Santos*[†], que partiu desta vida enquanto cuidava de sua mãe. *Wilmar*, permanecemos unidos!

Todos estes sei que torcem pacientemente pela minha vitória.

“Pessoas muito simples necessitam de um aparelho mental muito mais eficiente e complexo”.

SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA	ii
AGRADECIMENTOS	lii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIACÕES	xv
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xix

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO 21

1.1	Eletrocromatografia Capilar	22
1.1.1	Aspectos relacionados à Eletroforese Capilar	24
1.1.1.1	Conceitos básicos	24
1.1.1.2	Alternativas em CE	26
1.1.2	Aspectos relacionados à Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	27
1.1.2.1	Conceitos básicos	27
1.1.3	Características instrumentais de separação	28
1.2	Fases estacionárias utilizadas em CEC	33
1.2.1	Coluna recheada com material particulado	34
1.2.2	Coluna tubular aberta	35
1.2.3	Coluna monolítica	37
1.2.4	Eficiência de separação	40
1.3	Vantagens	42
1.4	Objetivos	44
1.5	Referências	44

CAPÍTULO 2

	MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E MÉTODOS	46
2.1	Capilares	47

	Página	
2.2	Reagentes e padrões	48
2.3	Agitadores	48
2.4	Outros materiais	48
2.5	Equipamento de Eletroforese Capilar	49
2.6	Câmaras de radiação ultravioleta	50
2.7	Mufla	51
2.8	Espectrofotômetros	51
2.9	Microscópio	52
2.10	Câmera digital	52
2.11	Processo sol-gel	52
2.11.1	Preparo do sol	53
2.11.1.1	Solução monomérica (A)	54
2.11.1.2	Solução porogênica (B)	55
2.11.2	Polimerização <i>in situ</i>	55
2.12	Referências	56

CAPÍTULO 3

	PREPARAÇÃO DAS COLUNAS MONOLÍTICAS POLIMERIZADAS POR FOTOINICIAÇÃO	58
3.1	Introdução	59
3.2	Tratamentos preliminares do capilar	59
3.2.1	Remoção do revestimento de poliacrilato	59
3.2.2	Pré-tratamento do capilar	61
3.3	Preparo do sol	62
3.3.1	Efeito dos agitadores	63
3.3.2	Razão MPTMS / H ₂ O	65
3.3.3	Porcentagem de porogênio	65
3.4	Polimerização <i>in situ</i>	66
3.4.1	Tempo de polimerização	66
3.4.2	Porcentagem de Irgacure 819	67
3.4.3	Outros fotoiniciadores	68

	Página	
3.5	Pós-tratamento da coluna	69
3.5.1	Estufa	69
3.5.2	Limpeza do monolito	69
3.6	Conclusões (método otimizado)	70
3.7	Referências	71

CAPÍTULO 4

	AVALIAÇÃO DAS COLUNAS MONOLÍTICAS EM CEC	72
4.1	Introdução	73
4.2	Permeabilidade em capilares de 125 μm D.I.	73
4.3	Permeabilidade em capilares de 70 μm D.I.	75
4.4	Corridas em CEC	76
4.4.1	CEC com FEM de 8 cm e 85 % de porogênio	76
4.4.2	CEC com FEM de 9 cm e 87 % de porogênio	78
4.4.2.1	Espectros de absorção no UV dos padrões	82
4.5	Análise por Microscopia Ótica	86
4.6	Conclusões	87
4.7	Referências	88

CAPÍTULO 5

	CONSTRUÇÃO DE UMA CÂMARA DE LUZ UV-VISÍVEL	89
5.1	Introdução	90
5.2	Materiais para a construção	92
5.3	Montagem da câmara	92
5.3.1	Considerações sobre segurança	92
5.3.2	Dimensões internas da câmara	94
5.3.2.1	Largura longitudinal	94
5.3.2.2	Largura transversal	94
5.3.2.3	Altura	94
5.3.3	Espelhos e apoio da amostra	94

	Página	
5.3.4	Reatores e circuito elétrico	96
5.4	Resultados e discussões	97
5.4.1	Espectros de emissão das lâmpadas fluorescentes	97
5.4.2	Tempo para polimerização	100
5.4.3	Aquecimento do ambiente interno	100
5.5	Conclusões	101
5.6	Referências	101

CAPÍTULO 6

	CONCLUSÕES E ESTUDOS FUTUROS	102
6.1	Conclusões específicas e estudos futuros	103
6.2	Conclusões gerais e estudos futuros	104

APÊNDICE A

	TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DE COLUNAS MONOLÍTICAS POR POLIMERIZAÇÃO TÉRMICA	106
A.1	Introdução	107
A.2	Avaliação da temperatura máxima suportada pelo revestimento de poliacrilato	107
A.2.1	Cálculo para perda de massa do poliacrilato	109
A.3	Preparo de coluna monolítica termopolimerizável	110
A.4	Perda de massa de PEG	112
A.4.1	Tratamento térmico a seco	113
A.4.2	Tratamento térmico em meio aquoso	113
A.5	Conclusões	114
A.6	Referências	115

APÊNDICE B

	CURRICULUM VITAE	116
--	------------------	-----

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
4.1	Passagem de massa em função do tempo para metanol, etanol e solução de eletrólito como FM através de monolito de 9 cm em capilar de 36 cm de comprimento e 125 μ m D.I.	74
4.2	Passagem de massa de metanol e acetonitrila em capilar de 40 cm de comprimento total contendo FEM de 5 cm com 10 e 20 minutos de flush	75
4.3	Razões volumétricas de acetato de amônio 50 mmol L ⁻¹ / água / acetonitrila, porcentagens de acetonitrila, concentrações de tampão e correntes médias das corridas A-D	79
A.1	Efeitos da temperatura sobre o comportamento do revestimento de poliacrilato	108
A.2	Tratamentos térmicos elevados após geleificação e resultados obtidos	112
A.3	Perda de massa de monolitos preparados com PEG 6000, PEG 200 e sem PEG em frascos abertos	114

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.1	Representação dos perfis dos fluxos eletroosmótico e hidrodinâmico	23
1.2	Esquema básico da HPLC, CE e CEC mostrando (A) injeção da amostra, (B) sistema de bombeamento da FM, (C) coluna cromatográfica, (D) detecção e (E) coleta de descarte; reservatórios (F) de entrada, (G) da amostra e (H) de saída, (I) sistema de fornecimento de alta voltagem, (J) capilar e (K) material cromatográfico. O diâmetro das colunas foi ampliado desproporcionalmente para facilitar a visualização das mesmas	29
1.3	Etapa inicial de uma corrida de Eletroforese Capilar (CE), mostrando a amostra injetada (canto superior esquerdo) em capilar contendo solução de eletrólito (verde)	30
1.4	Etapa intermediária em CE. Note que a passagem de um composto pelo detector de arranjo de diodos (DAD) é acusada pelo seu espectro de absorção (canto inferior direito)	30
1.5	Etapa final de uma corrida em CE, mostrando o perfil do eletroferograma (canto inferior esquerdo) obtido a partir de um comprimento de onda selecionado	31
1.6	Etapa inicial de uma corrida de Eletrocromatografia Capilar (CEC), mostrando a FE no interior da metade esquerda do capilar e a amostra injetada	31
1.7	Etapa intermediária de uma corrida em CEC. Neste caso, diferentes moléculas neutras podem migrar separadamente enquanto percorrem pela FE	32
1.8	Etapa final de uma corrida em CEC, mostrando os ânions saindo do capilar e o perfil do eletrocromatograma (canto inferior esquerdo)	32
1.9	Esquema do movimento da fase móvel (FM) através da fase estacionária (FE) em uma coluna de CEC preenchida com partículas eletricamente carregadas. A seta indica a direção do campo elétrico (E) e do fluxo eletroosmótico. Neste esquema, as partículas de FE estão espaçadas para facilitar a visualização das cargas elétricas	33
1.10	Etapas da preparação de uma coluna recheada com material particulado. a) obtenção da primeira frita; b) preenchimento do capilar com as partículas esféricas (geralmente os diâmetros são menos regulares do que mostrado); c) obtenção da 2ª frita após o preenchimento; d) obtenção da janela de detecção	35

	Página	
1.11	Etapas da preparação de uma coluna tubular aberta, mostrando a) o capilar pré-tratado; b) o preenchimento do capilar com o sol; c) a camada de FE ligada à superfície do capilar com posterior pós-tratamento e d) a obtenção da janela de detecção	36
1.12	Etapas da preparação de uma coluna monolítica, mostrando a) o capilar preenchido com um sol; b) a polimerização fotoiniciada <i>in situ</i> , formando-se o gel; c) a remoção do solvente utilizado como porogênio com posterior pós-tratamento e d) a obtenção da janela de detecção	38
1.13	Fotografias de um monolito em capilar de 75 µm D.I. obtidas por SEM (superior e canto inferior esquerdo) e por TEM (canto inferior direito)	39
1.14	Representação de três tipos de colunas usadas em CEC: (a) coluna recheada com material particulado; (b) coluna tubular aberta; e (c) coluna monolítica. Adaptado da referência	43
2.1	Montagem da torre de “puxamento” de capilares de sílica fundida e fibras ópticas	47
2.2	Sistema de injeção de líquidos em capilares de 375 µm (D.E.). A) Capilar, B) veda-rosca para evitar vazamentos, C) agulha, D) líquido e E) seringa	49
2.3	Equipamento de Eletroforese Capilar	49
2.4	Fotos da câmara de luz ultravioleta mostrando a) a porta frontal aberta e b) as portas frontal e de manutenção (superior) abertas, sem as lâmpadas	50
2.5	Foto-reator Kota Versalis mostrando a aparência externa e o espaço disponível para amostra, no canto inferior direito [2]	51
2.6	Reação de hidrólise de um alcóxido de silício em catálise ácida	53
2.7	Reação de condensação de um alcóxido de silício em catálise ácida	53
2.8	Estrutura do MPTMS (no topo), dímero formado da condensação de duas moléculas de MPTMS hidrolisadas (no meio) e um trímero (na parte inferior da figura)	54
2.9	Fotólise do Irgacure 819 e iniciação da polimerização de um precursor genérico	55
2.10	Polímero formado a partir de trímeros de MPTMS (simplificado)	56

	Página	
3.1	Esquema da incidência de luz num sol no interior de um capilar revestido com poliacrilato, mostrando os itens: A) lâmpada UV, B) representação da radiação UV, C) revestimento externo de poliacrilato, D) parede de sílica do capilar e E) sol absorvendo radiação	60
3.2	Espectro de absorbância de um filme de poliacrilato de espessura de 0,3 mm	61
3.3	Fotografia digital de um capilar vazio (A) e um capilar preenchido com monolito (B). D.I. = 125 μm e D.E. = 375 μm	63
3.4	Monolitos obtidos por diferentes tipos de agitadores em reservatórios de 1 mL, onde A(agit): agitador magnético; A(rep): agitador magnético, apenas com fase orgânica após repouso (separação da fase aquosa); B: ultra-som e C:Turrax [®]	64
3.5	Monolitos obtidos por diferentes tipos de agitadores em capilares de 125 μm D.I., onde A(agit): agitador magnético; A(rep): agitador magnético, com fase orgânica deixada em repouso; B: ultra-som e C:Turrax [®] . As setas indicam falhas ou ausência de monolito	64
3.6	Espectro de absorção do Irgacure 819 em diferentes concentrações, expressas em %m/v. Dissolvido em tolueno	68
3.7	Monolitos obtidos com 10 % de PEG Dimetacrilato (m/mMPTMS), sem o porogênio e com diferentes quantidades de Irgacure 784, A: 0,1 %; B: 0,4 %; C:0,5 % e D: 0	69
4.1	Passagem de massa de metanol, etanol e solução de eletrólito como FM através da FEM em função do tempo, através de flush	74
4.2	Eletrocromatograma de propilbenzeno, fenantreno e pireno diluídos em metanol. Fase móvel: 50 mmol L ⁻¹ tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:3:6) (v/v/v); voltagem aplicada: 15 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 40 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Padrões: 1: propilbenzeno, 2: fenantreno e 3: pireno. O pico em torno de 2 minutos é referente ao metanol	77
4.3	Eletrocromatograma de propilbenzeno, fenantreno e pireno diluídos em fase móvel. Fase móvel: 50 mmol L ⁻¹ tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:3:6) (v/v/v); voltagem aplicada: 15 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 20 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Padrões: 1: propilbenzeno, 2: fenantreno e 3: pireno	77

4.4	Eletr Cromatograma de propilbenzeno, fenantreno e pireno diluídos em metanol. Fase móvel: tampão Tris (40 mmol L ⁻¹) / HCl (pH 8,05) – acetonitrila (9:1); voltagem aplicada: 15 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 20 mbar x 10 s; detecção: 200 nm	78
4.5	Eletr Cromatograma “A” de propilbenzeno (1) (1 mmol L ⁻¹), fenantreno (2) (2 mmol L ⁻¹), e pireno (3) (1 mmol L ⁻¹). Fase móvel: 50 mmol L ⁻¹ tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:4:7) (v/v/v); voltagem aplicada: 20 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 40 mbar x 15 s; detecção: 200 nm. Pico do solvente: S	80
4.6	Eletr Cromatograma “B” de propilbenzeno (1) (1 mmol L ⁻¹), fenantreno (2) (2 mmol L ⁻¹), e pireno (3) (1 mmol L ⁻¹),. Fase móvel: 50 mmol L ⁻¹ tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:4:5); voltagem aplicada: 20 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 40 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Pico do solvente: S	80
4.7	Eletr Cromatograma “C” de propilbenzeno (1), fenantreno (2) e pireno (3) (1 mmol L ⁻¹ cada padrão). Fase móvel: 50 mmol L ⁻¹ tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (2:3:4); voltagem aplicada: 20 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 40 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Pico do solvente: S	81
4.8	Eletr Cromatograma “D” de propilbenzeno (1), fenantreno (2) e pireno (3) (1 mmol L ⁻¹ cada padrão). Fase móvel: 50 mmol L ⁻¹ tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:2:2); voltagem aplicada: 20 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 40 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Pico do solvente: S	81
4.9	Espectro de absorção do propilbenzeno no CE	83
4.10	Espectro de absorção do propilbenzeno no espectrofotômetro	83
4.11	Espectro de absorção do fenantreno no CE	84
4.12	Espectro de absorção do fenantreno no espectrofotômetro	84
4.13	Espectro de absorção do pireno no CE	85
4.14	Espectro de absorção do pireno no espectrofotômetro	85
4.15	Fotografia digital com microscópio ótico de um capilar de 125 µm D.I. revestido de poliacrilato contendo monolito polimerizado por foto iniciação em seu interior	86
4.16	Ampliação da imagem da Figura 4.15 pela troca de objetiva	87

	Página	
5.1	Esquema da alimentação das lâmpadas mostrando: A) tomada para conexão à rede elétrica; B) temporizador eletrônico programável para permitir e bloquear a passagem de corrente elétrica; C) reatores elétricos e D) lâmpadas fluorescentes de 15 w de potência cada	91
5.2	Fotografia digital da câmara de luz UV-Vis mostrando aparência externa	93
5.3	Fotografia digital da câmara mostrando as portas frontal e superior abertas	93
5.4	Desenho da câmara com as portas frontal e superior abertas mostrando o espaço interno disponível e dimensões das lâmpadas	95
5.5	Desenho da câmara fechada mostrando as dimensões externas	95
5.6	Fotografia digital da câmara em fase de construção, mostrando os reatores elétricos (caixas brancas), fiação e perfuração na parte posterior do compartimento	96
5.7	Esquema do circuito de alimentação utilizado na montagem da câmara	97
5.8	Fotografia digital mostrando a disposição das lâmpadas	98
5.9	Espectros de emissão de uma lâmpada negra, de uma lâmpada branca e das duas lâmpadas ligadas juntas (soma) no interior da câmara	99
5.10	Espectros de emissão de uma lâmpada negra, de transmitância do poliacrilato e de absorção do Irgacure 819. A transmitância se aproxima de 100 % acima de 400 nm. Os eixos-y dos espectros de emissão e de absorção foram convenientemente adaptados para se ajustarem ao espectro de transmitância	100
A.1	Efeitos da temperatura aplicada sobre a perda de massa e a diminuição do diâmetro externo (D.E.) de um segmento de capilar com 4,070 cm de comprimento revestido com poliacrilato	109
A.2	Sistema de agitação em banho de gelo (0-5 °C)	110
A.3	Sistema de banho com agitação e tratamento térmico. Inicialmente, a amostra flutua sobre a água. Após algum tempo, a água penetra nos poros do monolito e este, então, vai para o fundo do frasco	113

LISTA DE ABREVIACOES

Abreviação	Nome
ACN	Acetonitrila
CE	Eletroforese Capilar (do inglês <i>Capillary Electrophoresis</i>)
CEC	Eletrocromatografia Capilar (do inglês <i>Capillary Electrochromatography</i>)
D.E.	Diâmetro Externo
D.I.	Diâmetro Interno
DAD	Detector por Arranjo de Diodos
EOF	Fluxo Eletroosmótico (do inglês <i>Electroosmotic Flow</i>)
EtOH	Etanol
FE	Fase Estacionária
FEM	Fase Estacionária Monolítica
FM	Fase Móvel
FSCE	Eletroforese Capilar em Solução Livre (do inglês <i>Free Solution Capillary Electrophoresis</i>)
HCl	cido Clorídrico
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
Irgacure 819	xido de bis(2,4,6-trimetilbenzoil)-fenilfosfino
MDF	Medium Density Fiberboard
MEKC	Cromatografia Eletrocintica Micelar (do inglês <i>Micellar Electrokinetic Chromatography</i>)
MeOH	Metanol
M _{média}	Massa Molecular Média
MPTMS	Metacriloxipropiltrimetoxisilano
NaOH	Hidróxido de sódio
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial hidrogeniônico
PTFE	Politetrafluoretileno
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura (do inglês <i>Scanning Electron Microscopy</i>)
Si(OR) ₄	Alcóxido de silício
Si-O ⁻	Silanato

Abreviação	Nome
Si-OH	Silanol
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão (do inglês Transmission Electron Microscopy)
TEOS	Tetraetilaortosilicato ou Tetraetoxisilano
Tris	Tris(hidroximetil)aminometano
UV	Ultravioleta
v_{EOF}	Velocidade do fluxo eletrosmótico
v_{EP}	Velocidade efetiva ou eletroforética
Vis	Visível
v_{OBS}	Velocidade aparente ou observada
μ_{EOF}	Mobilidade eletrosmótica
μ_{EP}	Mobilidade efetiva ou eletroforética

RESUMO

Nesta dissertação é descrita a polimerização fotoiniciada de fases estacionárias monolíticas (FEM) em capilares de sílica fundida revestidos com poliacrilato através do método sol-gel. O objetivo deste estudo foi contribuir para a implementação da Eletrocromatografia Capilar (ECC) na Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

O Capítulo 1 descreve brevemente a CEC, relacionando-a com a Eletroforese Capilar (EC) e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Características gerais das fases estacionárias, incluindo as colunas monolíticas, são discutidas.

O Capítulo 2 apresenta os reagentes, soluções, materiais, equipamentos e métodos envolvidos na preparação, avaliação e aplicação das colunas monolíticas. Uma breve discussão sobre o processo *sol-gel* é realizada.

Alguns parâmetros relacionados ao preparo e otimização das colunas monolíticas são discutidos no Capítulo 3. Em geral, as etapas de preparação de uma coluna são simples. O revestimento de poliacrilato, em contraste com o de poliimida, é transparente à radiação usada, tornando possível a polimerização fotoiniciada sem a retirada do revestimento. Além do mais, esta característica facilita a visualização durante o processo de preenchimento, bem como a observação da FEM obtida.

O Capítulo 4 mostra os resultados obtidos para a avaliação da qualidade da FEM no que diz respeito à permeabilidade, resistência mecânica e propriedades eletrocromatográficas. A quantidade de solvente usada na preparação do *sol* está relacionada com a permeabilidade da FEM obtida. O comportamento eletrocromatográfico foi testado mediante a separação da mistura padrão contendo propilbenzeno, fenatreno e pireno em colunas de 125 µm de diâmetro interno.

O Capítulo 5 descreve a construção de uma câmara de luz UV-Vis equipada com lâmpadas fluorescentes negras e brancas para aplicação na polimerização fotoiniciada. Algumas vantagens deste reator fotoquímico são: baixo custo (em torno de R\$ 300,00), sendo que todas as peças podem ser adquiridas em comércio local; simples adaptações podem ser implementadas de acordo com a conveniência e propósitos do sistema; possui um apoio móvel, permitindo que a amostra possa ser posicionada em diferentes alturas da fonte de emissão. A construção da câmara

mostrada neste trabalho é uma grande alternativa para grupos interessados neste tipo de instrumento que não possuam muitos recursos financeiros.

No Capítulo 6 são discutidos aspectos e conclusões obtidos na execução do projeto.

O Apêndice A mostra alguns resultados experimentais obtidos na preparação de FEM por polimerização térmica.

ABSTRACT

This dissertation describes monolithic stationary phase (MSP) photo-initiated polymerization in polyacrylate-coated fused silica capillaries using a sol-gel approach. The objective of this study was to contribute for implementation of Capillary Electrochromatography (CEC) at Juiz de Fora Federal University (UFJF).

Chapter 1 briefly describes CEC, relating it with Capillary Electrophoresis (CE) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). General features about stationary phases, including monolithic columns, are discussed.

Chapter 2 presents reagents, solutions, materials, equipments and methods used for the preparation, evaluation and application of the monolithic columns, as well a brief discussion about the sol-gel approach.

Some parameters related with preparation and optimization of the monolithic columns are discussed in Chapter 3. In general, MSP preparation steps are simple. The polyacrylate coating, unlike the polyimide one, is transparent to the applied radiation, making the photo-initiated polymerization approach possible, without coating removal. Moreover, this feature makes the visualization during filling process as well observation of the obtained MSP easy.

Chapter 4 shows results obtained for quality evaluation of the MSP taking into account permeability, mechanical resistance and electrochromatographic properties. The solvent quantity used for *sol* preparation is related with the permeability of the MSP obtained. The electrochromatographic behavior was tested by means of separation of a standard mixture containing propylbenzene, phenanthrene and pyrene in monolithic columns with a 125 μm internal diameter.

Chapter 5 describes the UV-Vis chamber assembly equipped with black and white fluorescent lamps used for the photo-initiated polymerization. Some advantages of this homemade photochemical reactor are the following: low-cost (about US\$ 150.00), taking into account that all parts can be easily purchased in the local market; simple adaptations can be done in accordance with convenience and the purposes of the system; the bottom part is mobile, so the sample can be placed at different heights from the emission sources. The chamber assembly showed in this

work is a great alternative for groups interested in this kind of instrument which do not have many financial resources.

In Chapter 6, the aspects and conclusions obtained during project execution are discussed.

Appendix A shows some experimental results obtained for the preparation of MSP by thermal polymerization.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Uma das áreas mais importantes, com grande reconhecimento em Química Analítica, é a de separação. Há mais de um século, vários grupos de pesquisadores no mundo vêm aperfeiçoando e implantando novas técnicas e metodologias de análise nesta direção. O principal interesse na separação de espécies químicas para a análise de uma amostra surge quando os seus constituintes apresentam propriedades e características físico-químicas (absorção ou emissão de luz, por exemplo) semelhantes frente a um sistema de detecção qualquer, e por outro lado, possuem funções distintas num ambiente, organismo etc. Em geral, os métodos de detecção são seletivos – atendem a uma classe de compostos – e poucos são específicos. Por este motivo, as pesquisas em métodos de separação são tão numerosas. Os avanços nas técnicas de separação têm o sentido de aumentar a simplicidade de operação e diminuir o custo e o tempo de uma análise, bem como eliminar possíveis efeitos causados por interferentes ou outros constituintes presentes nas matrizes, que não sejam de interesse analítico.

No ramo da separação em meio líquido, as duas técnicas instrumentais de maior importância são a Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência, do inglês “High Performance Liquid Chromatography” (HPLC) e a Eletroforese Capilar ou “Capillary Electrophoresis” (CE). Embora haja certa disputa no mercado, estas técnicas podem ser encaradas como sendo complementares e não apenas como concorrentes. Aliás, o que tem sido feito recentemente é unir as características positivas mais relevantes destas duas técnicas em apenas uma, a Eletrocromatografia Capilar, do inglês Capillary Electrochromatography (CEC). Este casamento possibilita eliminar alguns efeitos negativos tanto da HPLC – como a necessidade de altas pressões de trabalho –, quanto da CE – como a dificuldade em separação de compostos eletricamente neutros.

1.1 Eletrocromatografia Capilar

CEC é um termo usado para descrever técnicas de separação que envolvem uma coluna contendo uma fase estacionária (FE) onde a fase móvel (FM) é impulsionada por eletroosmose [1] e é entendida como uma técnica híbrida entre a

CE e a HPLC, estando em franco crescimento no contexto analítico de separação [2-6]. O princípio básico da técnica está na aplicação de potencial elétrico num sistema de separação similar ao da CE, porém contendo uma coluna cromatográfica com uma FE. Com isso, o processo de separação em CEC se dá por um duplo mecanismo, ou seja, o cromatográfico (processo termodinâmico de partição entre FE e FM, como em HPLC) combinado com o eletrocinético (processo cinético de migração, da CE), de forma que, numa mesma coluna “eletrocromatográfica”, possam ser analisados compostos neutros, iônicos, polares ou apolares. O grande interesse em CEC é explicado pelo fato desta combinar efetivamente vantagens das duas técnicas em uma só. Da HPLC, a CEC extrai a alta seletividade e a versatilidade na separação de compostos neutros. Por outro lado, da CE, a CEC usa a alta eficiência de separação. Numa corrida eletrocromatográfica, um dado soluto irá experimentar as contribuições de retenção da FE e as propriedades eletroforéticas de migração.

Como a CEC pode ser realizada num equipamento de eletroforese, ela tem a vantagem da não necessidade de aplicação de sistemas com bombas de alta pressão como em HPLC, o que contribui para que a técnica seja relativamente simples em termos de instrumentação. Isso é possível, pois a própria voltagem aplicada promove um mecanismo de “bombeamento eletrosmótico” (fluxo eletrosmótico), conduzindo a FM através da coluna. Esta característica contribui para que o perfil do fluxo da FM seja plano, embora a presença da FE possa interferir neste perfil. A Figura 1.1 mostra os perfis dos fluxos em CE e HPLC:

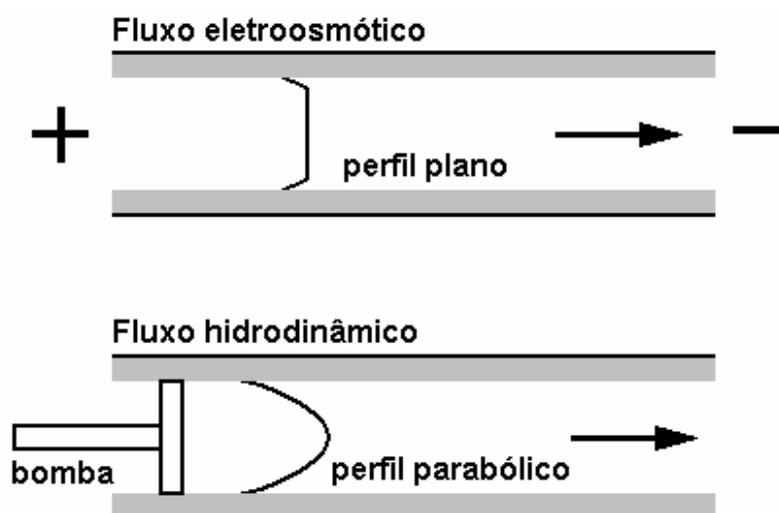


Figura 1.1. Representação dos perfis dos fluxos eletrosmótico e hidrodinâmico.

Neste contexto, as características apontadas como sendo relevantes para a HPLC e CE serão analisadas nas próximas seções para que possa ser entendido o surgimento da CEC, bem como suas principais características e vantagens.

1.1.1 Aspectos relacionados à Eletroforese Capilar

1.1.1.1 Conceitos básicos

A Eletroforese Capilar (CE) é uma técnica analítica instrumental, que se baseia na migração diferenciada de compostos neutros, iônicos ou ionizáveis em um sistema de eletrólito através da aplicação de um potencial elétrico (da ordem de 10^4 V) em um tubo capilar (de sílica fundida, Pyrex ou Teflon) [7]. A amostra é introduzida no capilar em meio tamponado (eletrólito), como uma banda de pequena espessura. Quando o campo elétrico é estabelecido, cada zona (constituída de um analito) migra independentemente, com velocidade constante, mas diferenciada, em função da razão carga/raio, proporcionando assim a separação. Num dado sistema, quanto maior for a carga – podendo se levar em conta o grau de ionização – e menor for o raio de um constituinte iônico – incluindo sua hidratação, mais rapidamente este irá migrar. Toda a análise é monitorada por um sistema de detecção. Quando cada analito passa por uma “janela” de detecção, situada no próprio capilar próximo à extremidade de saída, ele é acusado pelo sistema de detecção que indica a presença de uma banda de pequena espessura (pico). Isto gera um gráfico do sinal analítico em função do tempo, denominado “*eletroferograma*”. Em CEC, este é denominado “*eletrocromatograma*”.

Uma característica importante em análises por CE, assim como em CEC, é a presença de um fluxo da solução de eletrólito (geralmente no sentido introdução-deteção) denominado “fluxo eletrosmótico”. Quando um eletrólito é inserido num capilar, a superfície interna se torna eletricamente carregada, devido a sua própria ionização ou adsorção de íons presentes no eletrólito. No caso dos capilares de sílica fundida, os grupos silanóis (Si-OH) da superfície se ionizam formando grupos silanatos (Si-O⁻), se o pH do eletrólito for maior ou igual a três [8]. Em alguns casos na CEC, a FE também pode apresentar a mesma característica, a qual será

comentada no item 1.2. Esta superfície negativamente carregada atrai cátions do tampão, formando uma *camada interna* de cátions – também chamada de *camada fixa*. Esta camada interna não tem carga positiva suficiente para neutralizar a superfície negativa do capilar. Portanto, uma *camada externa*, ou *camada móvel* é formada nas proximidades da primeira camada, gerando a *dupla camada difusa*. Quando é aplicada uma diferença de potencial nas extremidades do capilar, os cátions da camada móvel são empurrados em sentido ao catodo. Como estes íons estão solvatados, eles acabam arrastando o leito aquoso, induzindo o fluxo eletrosmótico.

Assim, a *velocidade aparente* ou *observada* de um analito é a soma vetorial das *velocidades efetiva* (ou eletroforética) – movimento próprio do analito – e *eletrosmótica* – movimento do fluxo eletrosmótico, ou seja:

$$v_{OBS} = v_{EP} + v_{EOF} \quad (1.1)$$

onde v_{EP} é a velocidade eletroforética ($EP = electrophoretic$) do analito e v_{EOF} é a velocidade do fluxo eletrosmótico ($EOF = electroosmotic flow$).

Outro conceito bastante empregado é a mobilidade, que indica o quanto um analito ou o fluxo eletrosmótico se movimenta considerando-se o campo elétrico envolvido:

$$\mu_{EP} = \frac{v_{EP}}{E} = \frac{v_{EP}L}{V} \quad (1.2)$$

onde, E é o campo elétrico aplicado, obtido a partir da voltagem V sobre o comprimento total do capilar L . Da mesma maneira se calcula a mobilidade eletrosmótica, μ_{EOF} . A relação da mobilidade eletroforética de um soluto com sua carga e seu raio é dada pela expressão:

$$\mu_{EP} = \frac{q}{6\pi\eta r} \quad (1.3)$$

onde q é a carga do soluto, r é o seu raio e η é a viscosidade do eletrólito. Desta expressão, é possível entender que, em função da carga, a mobilidade eletroforética

de cátions será positiva, a de ânions será negativa e a de compostos neutros será nula. Mesmo em CEC, compostos neutros possuem $\mu_{EP} = 0$. O que justifica as diferentes velocidades de compostos neutros em CEC são as suas características de partição entre FE e FM.

Dependendo da magnitude da mobilidade eletrosmótica, é possível que determinados analitos sejam arrastados no sentido injeção-deteção, mesmo estes tendo tendência em migrar no sentido contrário (analitos que possuem cargas do mesmo sinal do eletrodo da extremidade da saída), ou seja, se μ_{EOF} for maior do que o módulo de μ_{EP} . Dessa forma, numa mesma corrida eletroforética é possível, de maneira ilustrativa, analisar ânions e cátions, com uma única banda de compostos neutros (caso houver) no centro do eletroferograma, juntamente com o sinal do fluxo, entre o grupo de cátions e o grupo de ânions. Já numa corrida *eletrocromatográfica*, ou seja, em CEC, existe também a separação entre os compostos neutros. Estas características ajudaram a tornar tanto a CE quanto a CEC duas técnicas bastante atraentes. As principais vantagens da CE são o curto tempo de análise e a elevada eficiência nas separações de compostos de interesses biológico, farmacêutico, alimentício, ambiental e outros. De modo inclusivo, a CEC herda satisfatoriamente tais vantagens.

1.1.1.2 Alternativas em CE

A limitação primária dos métodos convencionais de Eletroforese Capilar – isto é, Eletroforese Capilar em Solução Livre (FSCE, do inglês *Free Solution Capillary Electrophoresis*), na qual o capilar é apenas preenchido com eletrólito, geralmente tamponado – está na impossibilidade de separação de compostos neutros [9]. Estes migram juntamente com o fluxo eletrosmótico, sem ser separados. Uma alternativa bem implementada que foi criada para a separação de substâncias neutras por eletroforese é a *Cromatografia Eletrocínética Micelar – Micellar Electrokinetic Chromatography (MEKC)*. Nesta modalidade de Eletroforese Capilar, tensoativos iônicos são adicionados ao eletrólito condutor em quantidades propícias a formarem micelas. Estas micelas formam uma fase diferenciada denominada *fase pseudo-estacionária*, que são agregados esféricos onde as caudas (apolares) das moléculas

de tensoativo estão voltadas para dentro e as cabeças (polares) estão voltadas para fora, em contato com o eletrólito. Pelo fato de possuírem a superfície esférica carregada, as micelas apresentam mobilidade. Moléculas neutras de analito apresentam interações de partição diferenciadas com as fases de eletrólito (hidrofílica) e pseudo-estacionária (hidrofóbica), o que possibilita a separação.

Entretanto, a MEKC possui algumas desvantagens que limitam a sua utilização. Em geral, é complicado se trabalhar com solutos muito apolares, pois estes são completamente retidos pela fase micelar, sem haver uma separação. Além disso, esta técnica possui uma limitada capacidade de picos, isto é, o intervalo de tempo entre o soluto não retido e o soluto totalmente retido pela micela. Dessa forma, todos os analitos envolvidos na separação devem ter seus tempos de migração entre os tempos do soluto não retido e da micela (ou soluto totalmente retido). Outro problema da MEKC está na utilização de tensoativos, que causam incompatibilidades com os sistemas de detecção por espectrometria de massas [2].

1.1.2 Aspectos relacionados à Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

1.1.2.1 Conceitos básicos

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) é uma técnica analítica instrumental de separação cujo princípio está baseado nas diferenças de distribuição dos solutos de uma amostra entre uma fase hidrofóbica e outra hidrofílica. O analito é transportado em uma coluna cromatográfica contendo uma fase estacionária porosa pela passagem forçada de uma fase móvel líquida, composta por um ou mais solventes. A FE consiste num material cujas partículas, rígidas e porosas, medem de 3 a 10 μm de diâmetro, ou num líquido – imiscível com a FM – adsorvido neste suporte particulado. Existem ainda FE monolíticas comerciais para HPLC, as quais substituem o material particulado. Embora o escopo deste trabalho esteja voltado para colunas monolíticas em CEC, as FE monolíticas usadas em HPLC apresentam características similares, como diminuição da pressão necessária para bombeamento de FM, em consequência da alta porosidade e grande área superficial por unidade de massa [10]. A separação se dá, quando um dado composto possui

uma intrínseca afinidade (forças de interação a nível molecular, incluindo dispersão, orientação de dipolo e ligação de hidrogênio) com a FE ou com a FM, que acarreta em uma determinada razão de distribuição, justificando seu intrínseco tempo de percurso pela coluna. Em HPLC em *Fase Normal*, a FE é mais hidrofílica e a FM é mais hidrofóbica e na HPLC em *Fase Reversa*, a FE é mais hidrofóbica e a FM é mais hidrofílica. Estes modos de HPLC possuem seus análogos em CEC, ou seja, uma FE constituída de porções orgânicas hidrofóbicas pode se comportar como uma Fase Reversa, enquanto uma FE à base de sílica se comporta como uma Fase Normal.

Quando o sistema de detecção monitora o sinal (absorbância, por exemplo) de todo o processo de separação – comumente chamado de corrida cromatográfica, é possível gerar os cromatogramas, que são gráficos que exibem o sinal medido continuamente em função do tempo.

As principais vantagens da HPLC estão na *seletividade* (capacidade de se analisar uma classe de compostos de interesse sem efeitos de interferentes), *reprodutibilidade* (capacidade de obtenção dos mesmos resultados quando se utiliza um mesmo método, em diferentes laboratórios) obtida nas análises e na *eficiência* na separação de compostos iônicos e moleculares. Exemplos destes compostos incluem hidrocarbonetos, carboidratos, aminoácidos, proteínas, antibióticos, esteróides além de inúmeras outras classes de composto orgânicos e inorgânicos. Tais vantagens renderam à HPLC o status de técnica analítica de separação mais utilizada nos últimos anos. Entretanto, a busca incessável por novas tecnologias tem mostrado que outros caminhos na ciência da separação são bastante promissores.

1.1.3 Características instrumentais de separação

É possível observar diversas semelhanças nos métodos de separação. A Figura 1.2 mostra algumas características gerais da HPLC, da CE e da CEC, enquanto as Figuras 1.3 a 1.8 mostram diferentes etapas numa separação ilustrativa de compostos aniônicos (azul), catiônicos (vermelho) e moleculares (amarelo) por CE e por CEC.

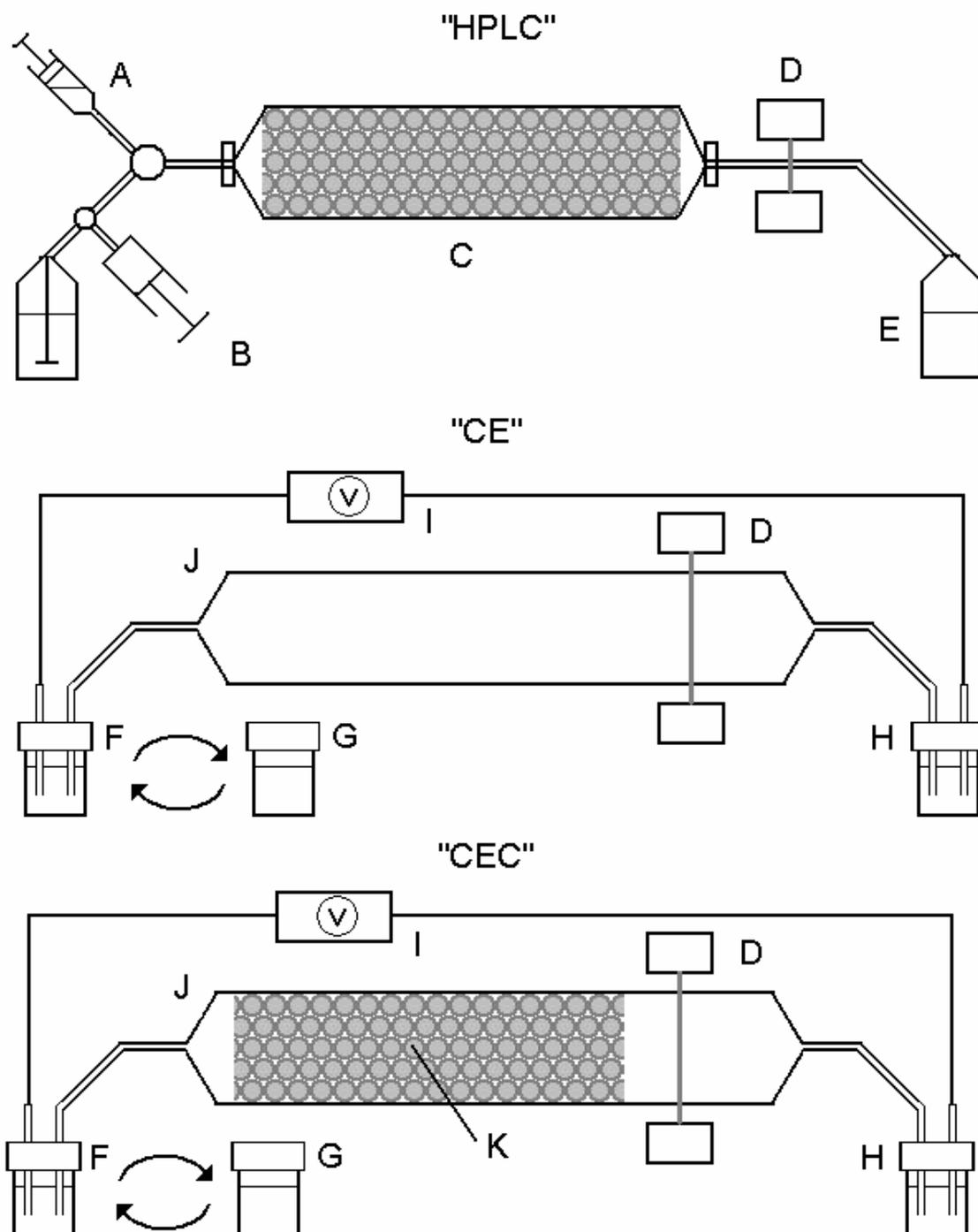


Figura 1.2. Esquema básico da HPLC, CE e CEC mostrando (A) injeção da amostra, (B) sistema de bombeamento da FM, (C) coluna cromatográfica, (D) detecção e (E) coleta de descarte; reservatórios (F) de entrada, (G) da amostra e (H) de saída, (I) sistema de fornecimento de alta voltagem, (J) capilar e (K) material cromatográfico. O diâmetro das colunas foi ampliado desproporcionalmente para facilitar a visualização das mesmas.

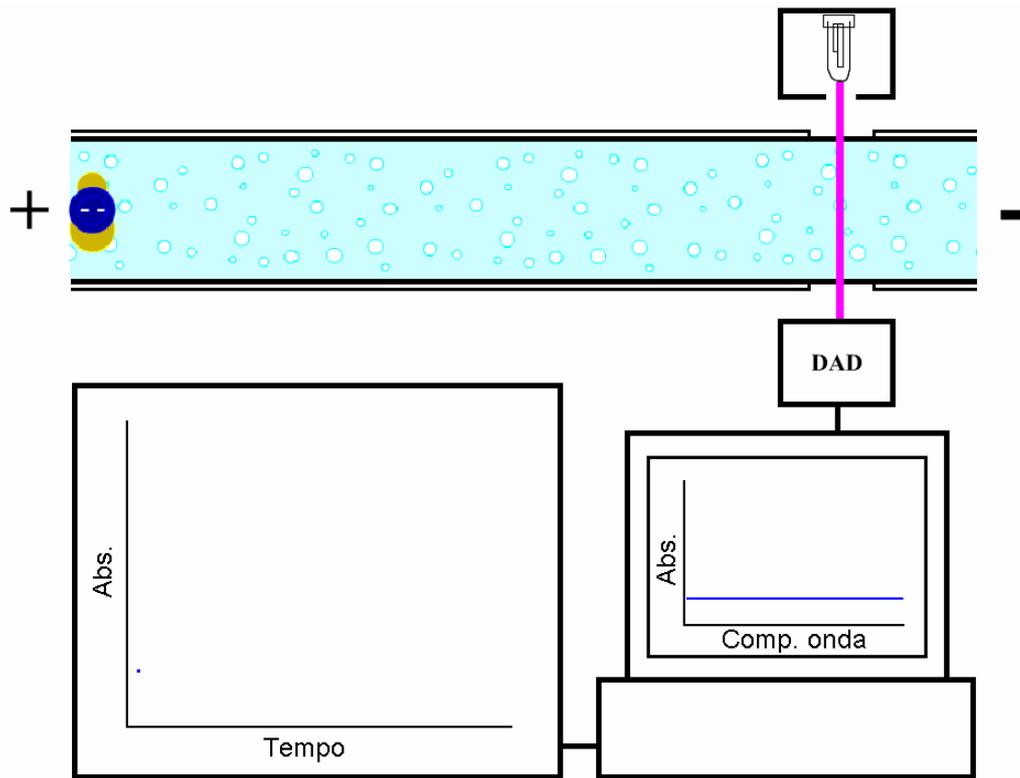


Figura 1.3. Etapa inicial de uma corrida de Eletroforese Capilar (CE), mostrando a amostra injetada (canto superior esquerdo) em capilar contendo solução de eletrólito (ciano).

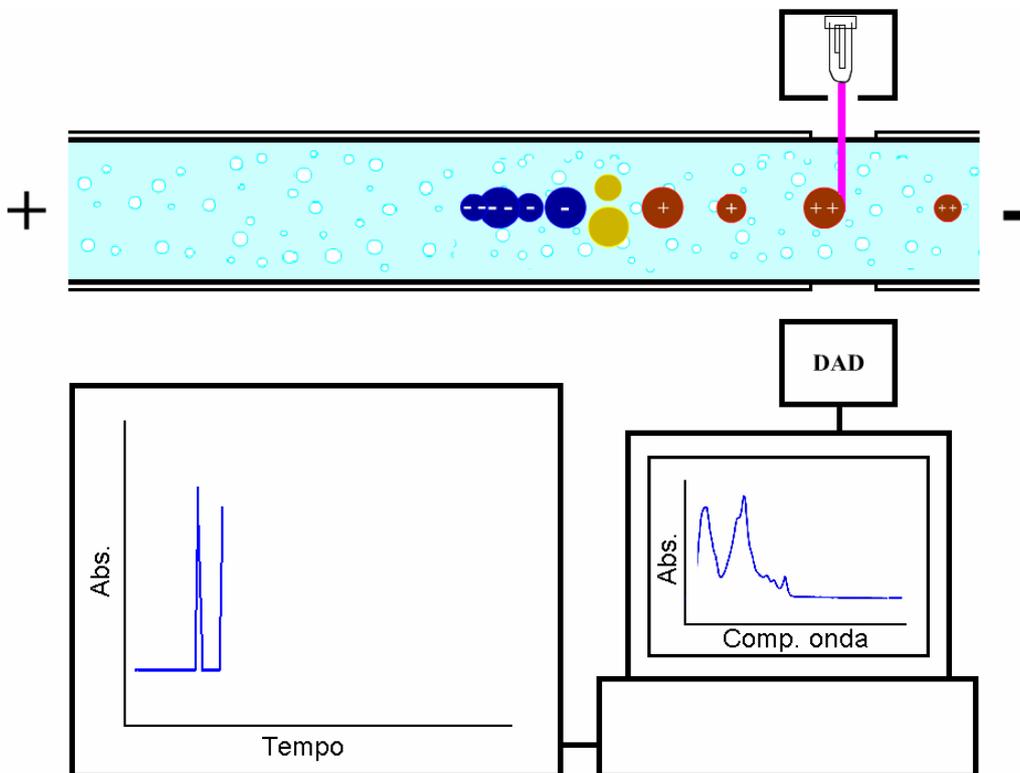


Figura 1.4. Etapa intermediária em CE. Note que a passagem de um composto pelo detector de arranjo de diodos (DAD) é acusada pelo seu espectro de absorção (canto inferior direito).

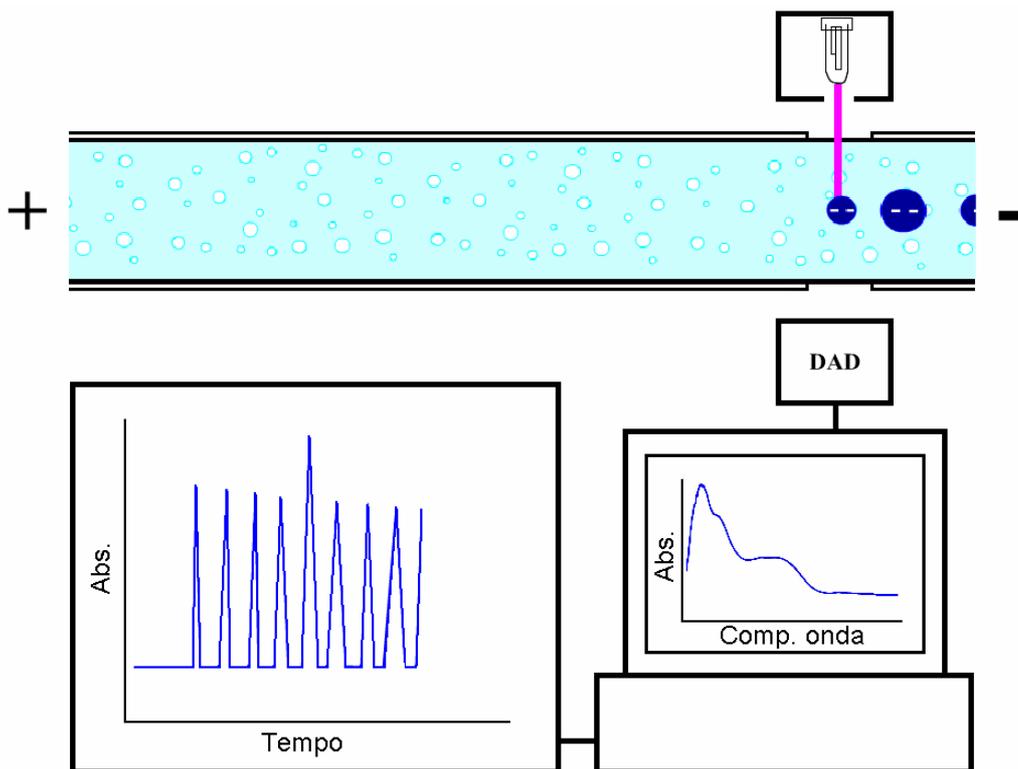


Figura 1.5. Etapa final de uma corrida em CE, mostrando o perfil do eletroferograma (canto inferior esquerdo) obtido a partir de um comprimento de onda selecionado.

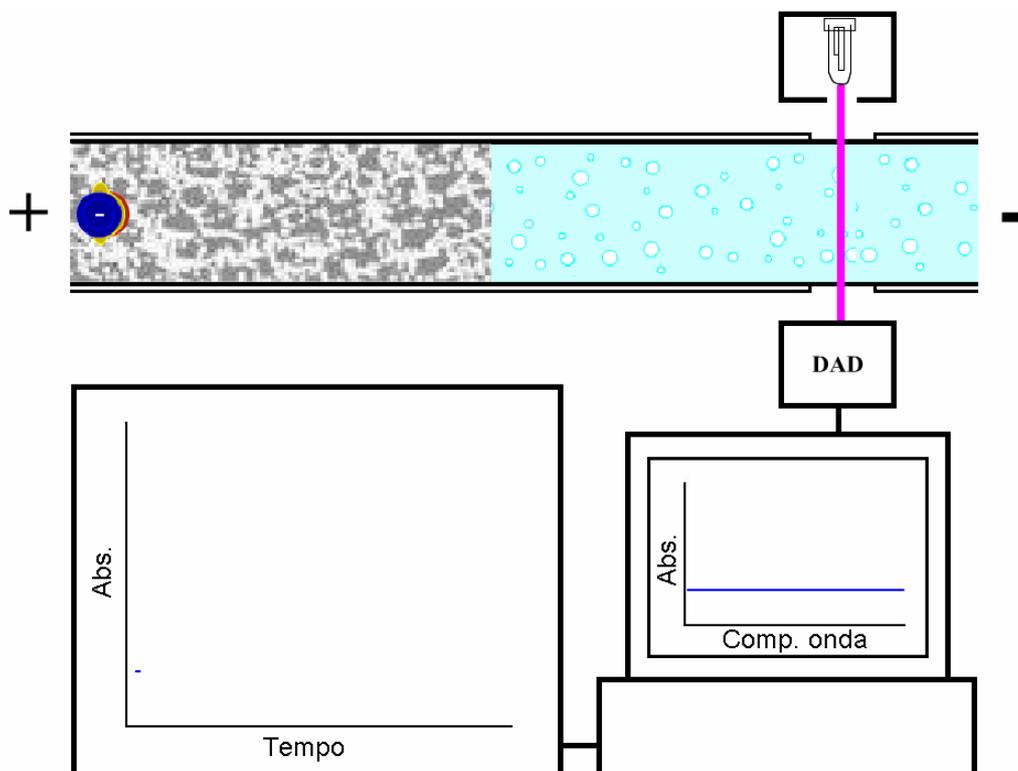


Figura 1.6. Etapa inicial de uma corrida de Eletrocromatografia Capilar (CEC), mostrando a FE no interior da metade esquerda do capilar e a amostra injetada.

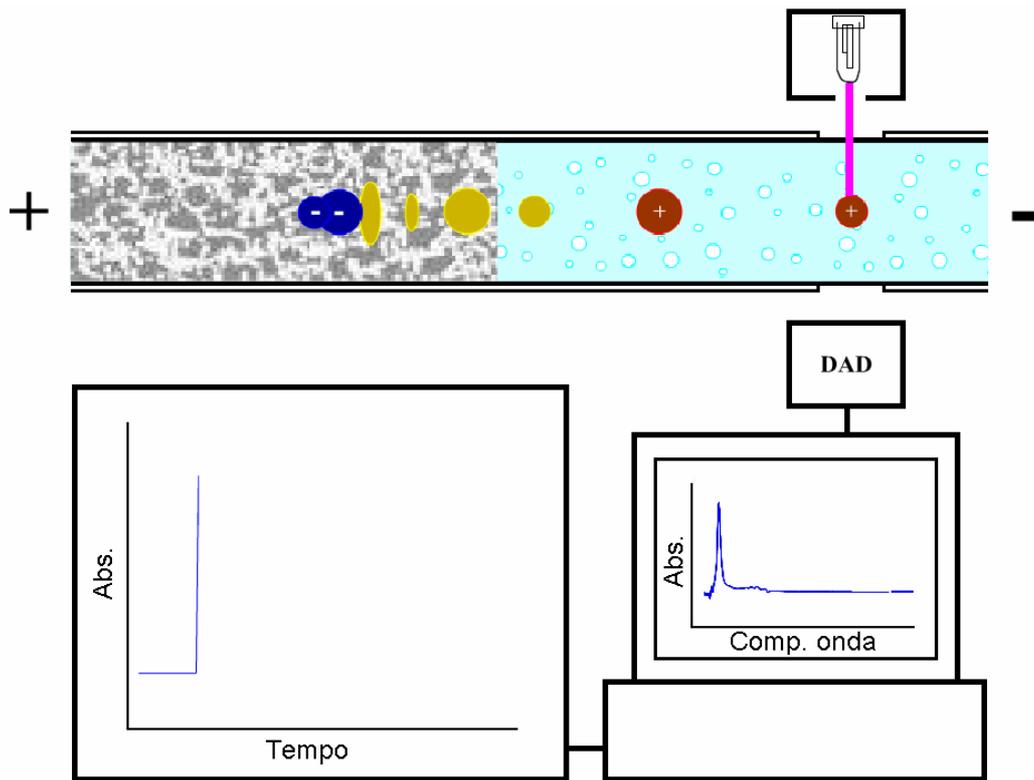


Figura 1.7. Etapa intermediária de uma corrida em CEC. Neste caso, diferentes moléculas neutras podem migrar separadamente enquanto percorrem pela FE.

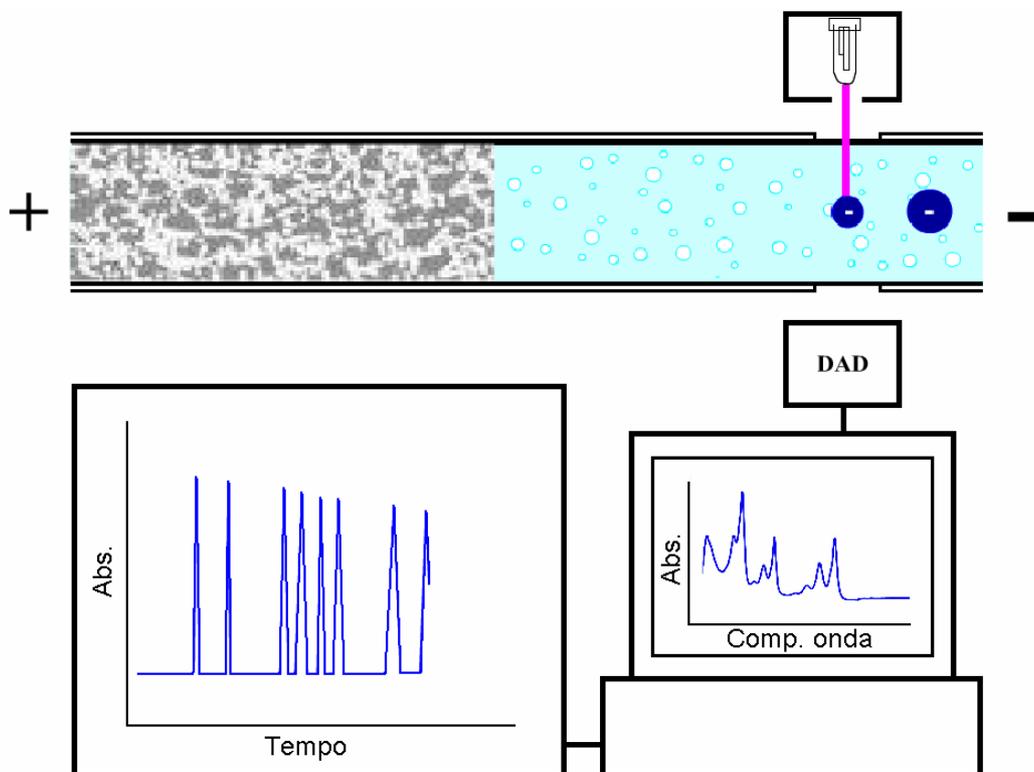


Figura 1.8. Etapa final de uma corrida em CEC, mostrando os ânions saindo do capilar e o perfil do eletrocromatograma (canto inferior esquerdo).

1.2 Fases estacionárias utilizadas em CEC

Existem dois conceitos estritamente relacionados na ciência da separação, que são a coluna cromatográfica e a fase estacionária. A primeira é uma câmara tubular de separação (que, na CEC, pode ser o mesmo capilar utilizado na CE) contendo em seu interior, a fase estacionária, que é o material cromatograficamente ativo.

Uma FE deve atender a duas especificações principais:

(a) interagir de maneira seletiva com vários tipos de moléculas de solutos, neutras ou não, proporcionando, assim como em HPLC, diferentes taxas de migração através da coluna;

(b) apresentar porosidade, permitindo a passagem do fluxo eletroosmótico (FEO). Dependendo do tipo de FE, o FEO é melhorado pela presença da dupla camada difusa formada na interface da FM com a superfície carregada da FE [2], além daquela formada próximo à superfície interna do capilar, como mostra o esquema abaixo:

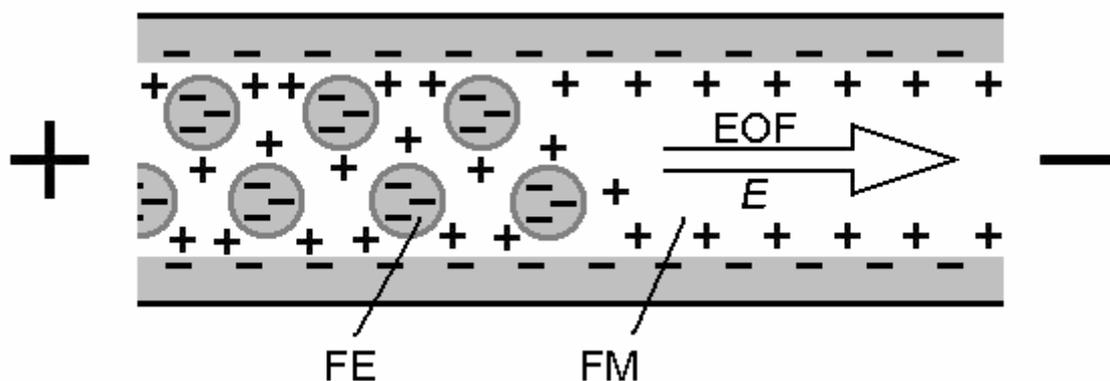


Figura 1.9. Esquema do movimento da fase móvel (FM) através da fase estacionária (FE) em uma coluna de CEC preenchida com partículas eletricamente carregadas. A seta indica a direção do campo elétrico (E) e do fluxo eletroosmótico. Neste esquema, as partículas de FE estão espaçadas para facilitar a visualização das cargas elétricas.

Existem três tipos principais de colunas cromatográficas em CEC. A primeira a ser utilizada foi *coluna recheada com material particulado* onde geralmente o material poroso e esférico preenche o capilar até a janela de detecção, restando

somente os poros para passagem de fase móvel. Um segundo tipo de FE se refere à *coluna tubular aberta*, onde o material cromatográfico é apenas um revestimento polimérico interno ao capilar. Já a *coluna monolítica* consiste num material, que pode ser o mesmo utilizado na fabricação das colunas tubulares abertas, porém, estando presente em toda a direção radial interna num determinado comprimento do capilar. As etapas de construção destas colunas são descritas nos próximos itens.

1.2.1 Coluna recheada com material particulado

A maioria das colunas utilizadas em CEC está contida neste grupo [2,11], onde partículas sólidas micrométricas são utilizadas como FE para preencher o capilar. As etapas de confecção, mostradas na Figura 1.10, consistem nos itens abaixo:

(a) Obtenção da 1ª fritas (do inglês *frit*), que é uma tampa porosa usada para reter as partículas no interior do capilar. A fritas é freqüentemente obtida pela queima de material particulado a base de sílica;

(b) Preenchimento do capilar com partículas a base de sílica;

(c) Obtenção da 2ª fritas no final do preenchimento;

(d) Obtenção da janela de detecção.

O item mais problemático destas colunas está na necessidade do uso das fritas. Elas contribuem para inúmeras características indesejáveis, como perda de desempenho e formação de bolhas numa análise, influência imprevisível sobre o fluxo eletroosmótico, além da dificuldade na preparação [12,13].

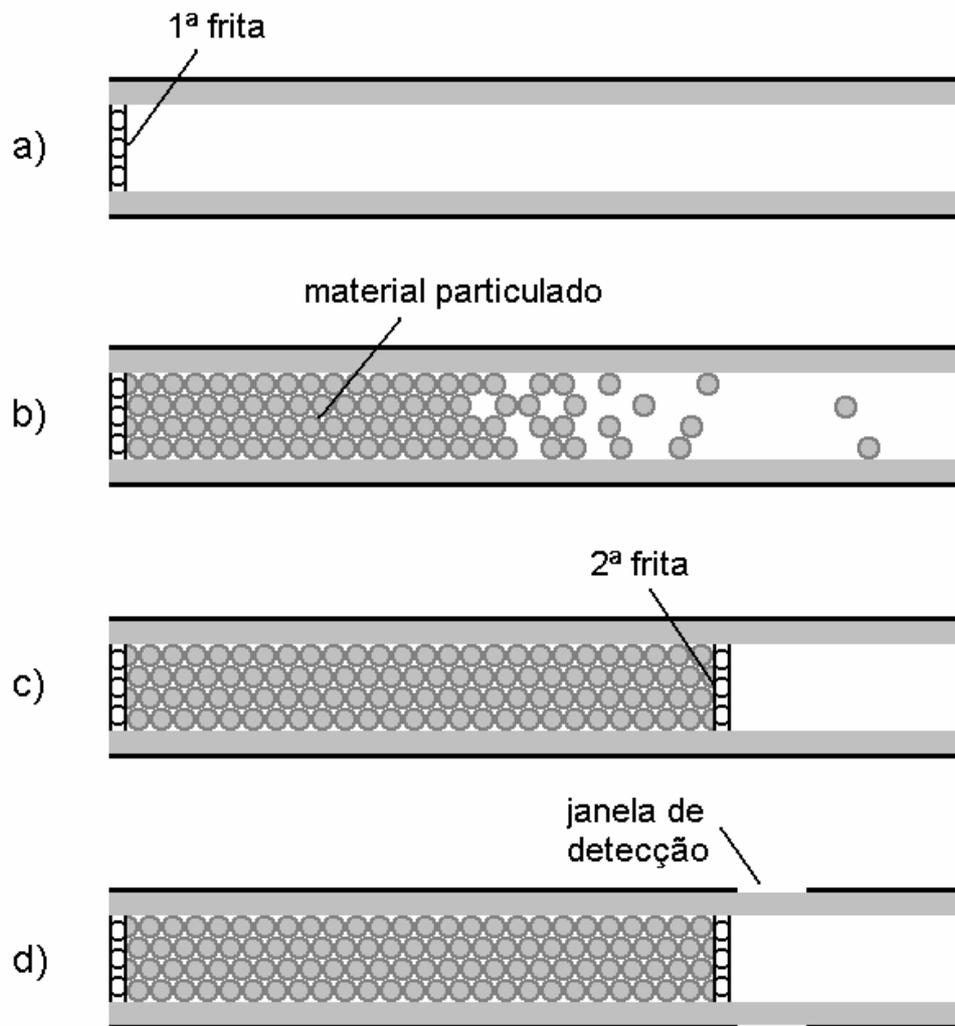


Figura 1.10. Etapas da preparação de uma coluna recheada com material particulado. a) obtenção da primeira frita; b) preenchimento do capilar com as partículas esféricas (geralmente os diâmetros são menos regulares do que mostrado); c) obtenção da 2ª frita após o preenchimento; d) obtenção da janela de detecção.

1.2.2 Coluna tubular aberta

No formato de tubos abertos uma camada de FE é ligada quimicamente na superfície interna do capilar. Em geral, a FE deve ser espessa o suficiente para originar características de retenção e capacidade de amostragem, o que é usualmente difícil de alcançar usando os métodos convencionais de fabricação. É importante lembrar que este tipo de FE não requer o uso das fritas. Conforme mostra a Figura 1.11, os passos para a confecção de uma coluna tubular aberta, de maneira geral, compreendem:

(a) Limpeza e pré-tratamento do capilar, deixando a superfície interna mais concentrada com grupos silanóis, que funcionam como âncoras para prender a FE;

(b) Preenchimento do capilar com uma fase líquida denominada “sol”, que permanece em repouso por um determinado período para permitir a formação de uma camada ligada à parede interna;

(c) Aplicação de pressão para remover os componentes que permaneceram em solução, com posterior pós-tratamento da camada formada;

(d) Obtenção da janela de detecção. A ausência de FE nesta região pode ser obtida com uma máscara que impeça a formação de FE naquela região.

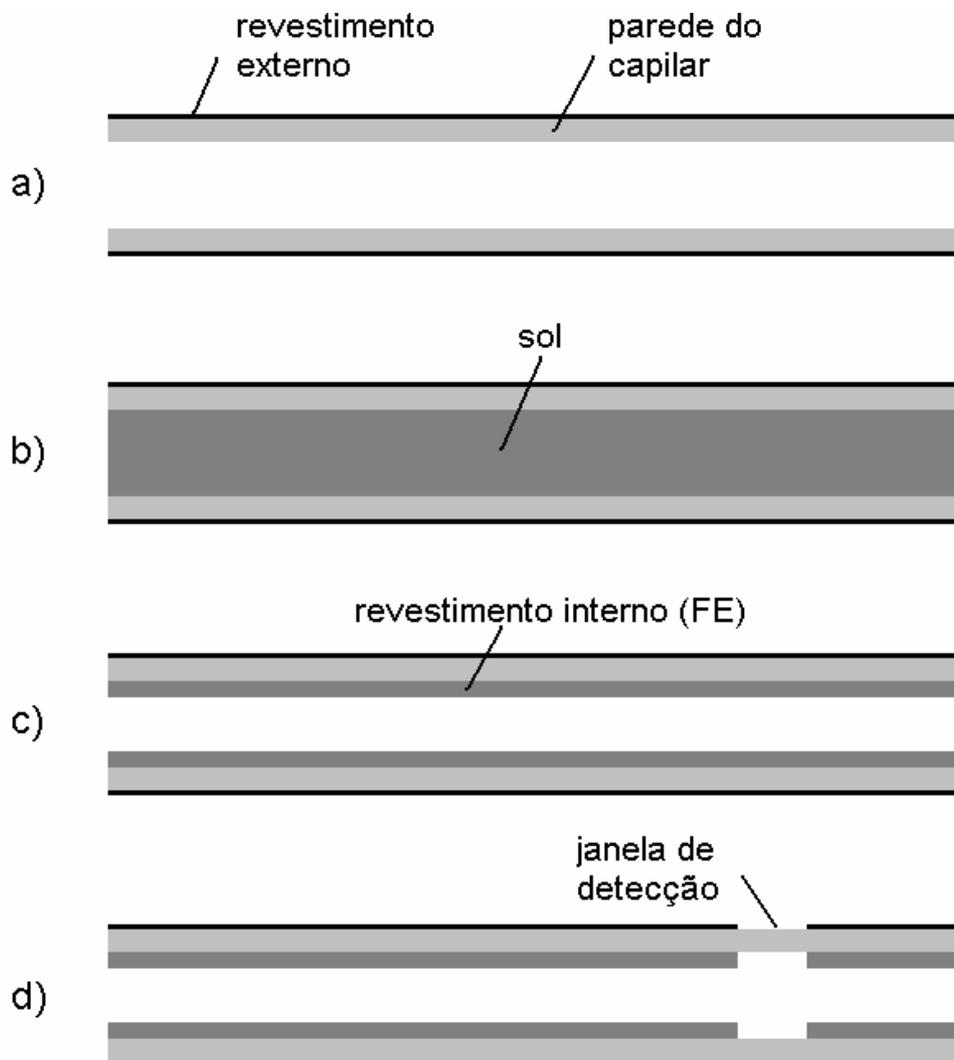


Figura 1.11. Etapas da preparação de uma coluna tubular aberta, mostrando a) o capilar pré-tratado; b) o preenchimento do capilar com o sol; c) a camada de FE ligada à superfície do capilar com posterior pós-tratamento e d) a obtenção da janela de detecção.

1.2.3 Coluna monolítica

Segundo Gusev *et al* [14] uma fase estacionária monolítica é definida como “uma estrutura contínua, unitária e porosa preparada por polimerização *in situ* ou consolidação no interior do tubo e, se necessário, com a superfície funcionalizada para convertê-la em um sorvente com as propriedades cromatográficas de ligação desejadas.” Em termos práticos, uma coluna monolítica consiste numa fina barra, com certa rigidez, cujo diâmetro é igual ao diâmetro interno do capilar que neste reside. O capilar, por sua vez, pode ser o mesmo utilizado em CE, como o de sílica fundida. As colunas monolíticas foram desenvolvidas como alternativas para as colunas recheadas de material particulado, devido à dificuldade na preparação das fritas e outros problemas operacionais.

Uma fase estacionária monolítica (FEM), a qual tem despertado bastante interesse em CEC [1], é comumente obtida através de polimerização via o processo *sol-gel*, onde uma solução na fase líquida denominada sol, contendo reagentes específicos, perde sua fluidez pelo aumento da viscosidade, se tornando um gel [15]. Além de precursores poliméricos, é necessária a presença de um solvente que atua como *porogênio*, de forma que, após a polimerização, este é removido juntamente com resíduos de reação química, restando no capilar apenas o polímero poroso e seco (monolito).

Uma alternativa atraente para a preparação do monolito é através da polimerização fotoiniciada em capilares recobertos com poliacrilato. Este polímero é transparente à radiação utilizada no preparo da FEM e, desta forma, não é necessária a remoção do revestimento. Esta é uma característica chave, já que a flexibilidade e resistência mecânica do capilar são mantidas [7]. Assim, todo o processo de otimização do preparo de colunas monolíticas polimerizadas por fotoiniciação, o qual é o foco principal deste trabalho, pode ser realizado utilizando-se capilares revestidos com poliacrilato. De maneira geral, as etapas de construção desta coluna (Figura 1.12) são as seguintes:

(a) Preenchimento do capilar (pré-tratado) com o sol por um determinado segmento. O ponto até onde o sol é inserido pode ser definido por simples visualização em capilares revestidos com poliacrilato (ou qualquer outro

revestimento transparente) ou por ajustes do tempo e pressão de injeção no equipamento de CE;

(b) Polimerização fotoiniciada do(s) precursor(es) polimérico(s) no interior do capilar (polimerização *in situ*);

(c) Remoção do solvente e resíduos da polimerização por aquecimento ou aplicação de pressão no capilar, limpeza e condicionamento do monolito;

(d) Obtenção da janela de detecção.

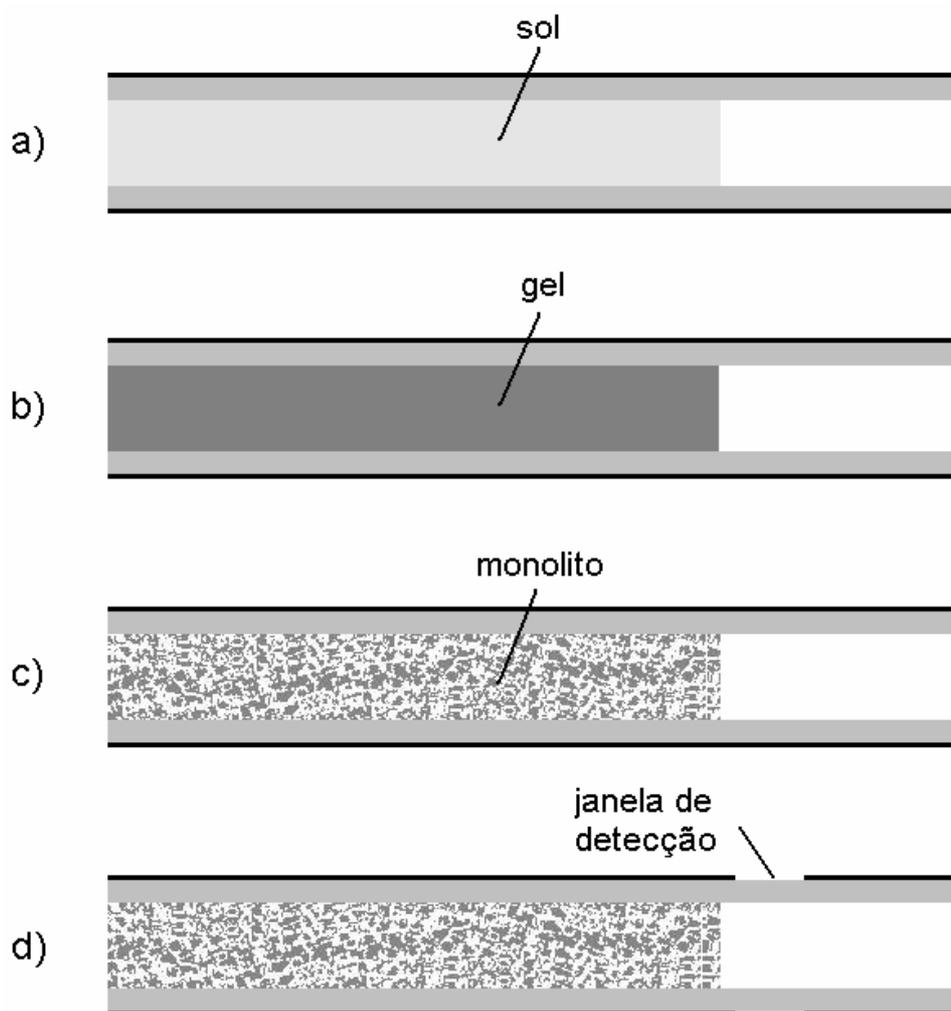


Figura 1.12. Etapas da preparação de uma coluna monolítica, mostrando a) o capilar preenchido com um sol; b) a polimerização fotoiniciada *in situ*, formando-se o gel; c) a remoção do solvente utilizado como porogênio com posterior pós-tratamento e d) a obtenção da janela de detecção.

Uma característica importante é a presença dos *macroporos* e *mesoporos* na estrutura monolítica. Os macroporos são poros com dimensões maiores que 50 nm (dimensões definidas pela *International Union of Pure and Applied Chemistry*, IUPAC) e são os grandes responsáveis por uma alta permeabilidade de FM mesmo com a aplicação de baixas pressões ou aplicação de voltagem. Já os mesoporos possuem dimensões entre 2 e 50 nm e são grandes responsáveis pela interação entre a FE e os analitos, pois a área superficial de um material mesoporoso é relativamente elevada. A Figura 1.13 mostra uma seleção de imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM, do inglês Scanning Electron Microscopy) [14,10] e por Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM, do inglês Transmission Electron Microscopy) [16]. A SEM possibilita a visualização dos domínios (estrutura sólida) e macroporos, enquanto a TEM permite a visualização dos mesoporos.

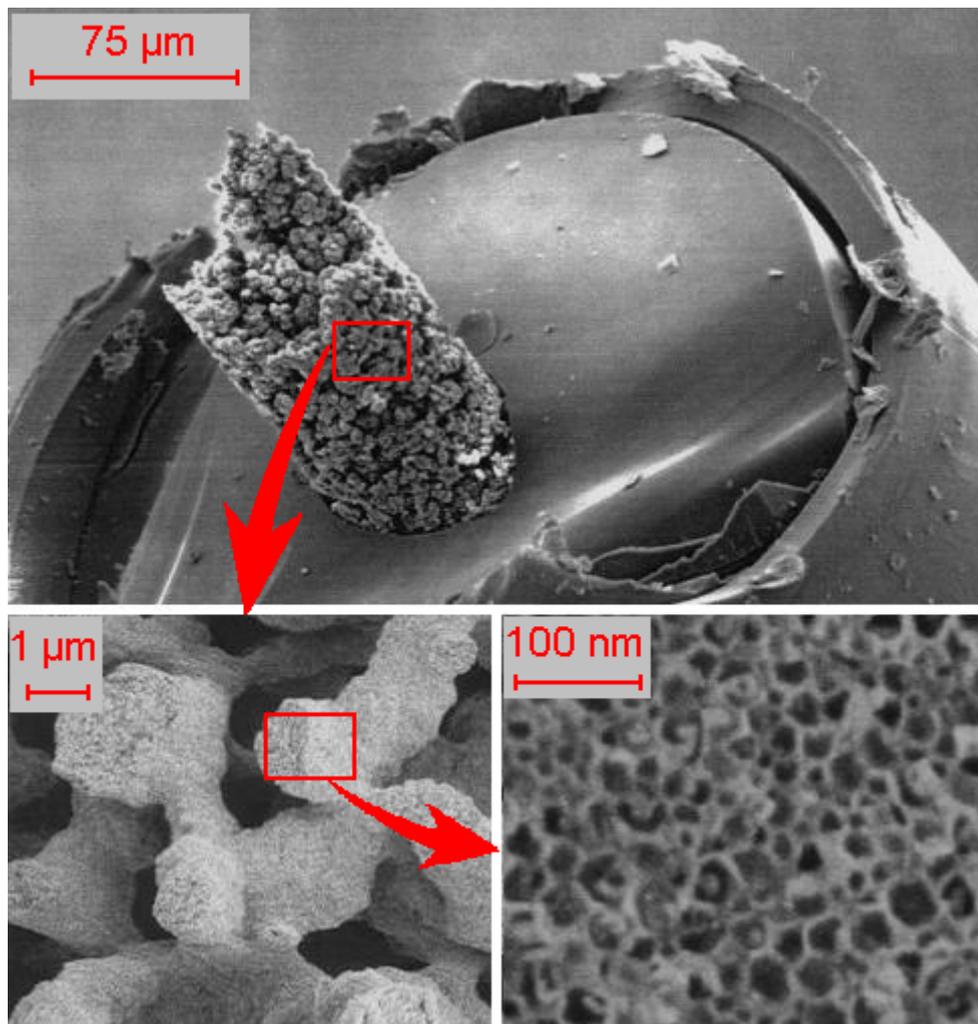


Figura 1.13. Fotografias de um monolito em capilar de 75 µm D.I. obtidas por SEM (superior e canto inferior esquerdo) e por TEM (canto inferior direito).

A polimerização de uma FEM é geralmente realizada termicamente, mas podendo também ser ativada mediante incidência de luz [17]. A escolha dependerá, além da disponibilidade de reagentes, das características físico-químicas do revestimento externo do capilar. O revestimento de poliimida, comumente empregado nos capilares para CE, absorve luz no ultravioleta e em certa faixa do visível permitindo apenas a *termopolimerização* (onde o próprio precursor se polimeriza quando aquecido) ou *polimerização termoiniciada* (onde um reagente termoiniciador se decompõe quando aquecido, liberando radicais que provocam a polimerização do precursor) de uma FEM. Embora a remoção deste revestimento para se realizar a fotoiniciação já tenha sido proposta [18], deve-se ressaltar que este ato torna a coluna capilar extremamente frágil e, de certa forma, inutilizável.

Em função do avanço tecnológico, as colunas monolíticas vêm despertando grande interesse científico do ponto de vista de separações. Com o desenvolvimento da eletrocromatografia capilar e pelo fato de apresentarem relevantes vantagens sobre as outras colunas, as colunas monolíticas estão sendo amplamente usadas entre as categorias que usam fluxo eletroosmótico na separação por fase líquida. Além disto, existem colunas monolíticas comerciais tanto para CEC quanto para HPLC.

1.2.4 Eficiência de separação

A eficiência de separação em uma análise é um parâmetro que expressa o quanto um analito percorre (ou o quanto é retido) pela coluna e o quanto ele se dispersa enquanto percorre. Numa análise eficiente o analito se dispersa pouco (evitando alargamento de banda) quando ele migra uma dada distância. Isso permite a análise de mais constituintes de uma amostra em um dado intervalo de tempo.

Em HPLC e em CEC com colunas de material particulado, um dos fatores que influenciam a eficiência de separação é o tamanho das partículas que compõe a FE. Isto pode ser mostrado através da relação entre o *número de pratos* (N) – que expressa a eficiência de separação – com a *altura do prato* (H):

$$N = L / H \tag{1.4}$$

onde L é o comprimento da coluna. A de van Deemter que define H , em HPLC é dada pela expressão:

$$H = A + B/u + (C_E + C_M)u \quad (1.5)$$

onde u é a velocidade da fase móvel em cm/s e A , B , C_E e C_M são coeficientes que expressam as contribuições para o alargamento de bandas e são relacionados, respectivamente, com os fenômenos de *caminhos múltiplos de percurso*, *difusão longitudinal* e *transferências de massa na fase estacionária e fase móvel*. Os termos A e C_M são dependentes do diâmetro das partículas e são dados por:

$$A = 2\lambda d_p \quad (1.6)$$

$$C_M = \frac{f_M(k)d_p^2}{D_M} \quad (1.7)$$

onde λ é o fator de obstrução, que depende da qualidade da FE; d_p é o diâmetro médio das partículas da FE; k é o fator de retenção, $f_M(k)$ é uma função de k e D_M é o coeficiente de difusão do soluto na FM.

Com as equações 1.6 e 1.7 é possível entender que quanto menor for o diâmetro das partículas, menor será a contribuição para H , definido nas equações 1.5, o que torna a eficiência maior (equação 1.4). Do ponto de vista geométrico, partículas esféricas menores, confinadas numa dada coluna de comprimento L , terão maior somatório das áreas de superfície do que partículas maiores. Portanto, com uma área superficial total maior – o que permite interação mais efetiva com os solutos, uma FE com partículas menores apresentará maior eficiência nas separações.

Entretanto, colunas com partículas de diâmetro reduzido possuem menos espaço vazio para a passagem de FM e de solutos e a sua utilização requer sistemas de bombeamento de FM bastante complexos. Além de serem necessários alguns requisitos como movimento de FM com ausência de pulsos e velocidade de fluxo controlada e variando de 0,1 a 10 mL/min (para HPLC), são indispensáveis altas pressões de trabalho, chegando à ordem de 10^4 kPa [19,20]. Tais pressões

acabaram sendo o fator limitante para a utilização de partículas menores do que 3 µm de diâmetro. Já que a diminuição do tamanho das partículas acarreta, necessariamente, no aumento da complexidade do sistema de bombeamento, outros caminhos devem ser trilhados para a busca de maiores eficiências, como é o caso das colunas monolíticas para HPLC e para CEC. Smith [10] estudou as diferenças entre uma coluna monolítica e uma recheada com material particulado (ambas comerciais para HPLC). Seu trabalho mostra diferenças significativas nos três termos, A, B e C, na equação de van Deemter, devido às diferenças nas estruturas cromatográficas, como porosidade, disposição da FE, etc. Deve ser ressaltado que a equação de van Deemter deve ser analisada com cautela quando se trata de colunas tubulares abertas e colunas monolíticas, já que estas não possuem partículas de FE, e sim, um material polimérico contínuo. Contudo, as colunas monolíticas têm apresentado maior performance do que as de material particulado [21].

1.3 Vantagens

Comparando com as colunas de material particulado, as colunas monolíticas apresentam muitas vantagens como a facilidade de confecção (a preparação é realizada *in situ*), a ausência das “fritas” [12], o que elimina problemas operacionais causados por estas (como a formação de bolhas no interior do capilar, que dificultam a passagem de corrente elétrica); maior área superficial e alta porosidade da fase estacionária, permitindo maior transferência de massa através da coluna.

Em comparação com as colunas tubulares abertas, a principal vantagem está no fato de que as fases estacionárias monolíticas estão mais concentradas num dado segmento de capilar. Além da fabricação de uma coluna monolítica ser mais simples, as colunas tubulares abertas correm o risco de não fornecerem uma espessura uniforme de FE.

A Figura 1.14 reúne os detalhes estruturais dos três modos principais de colunas capilares utilizadas em CEC.

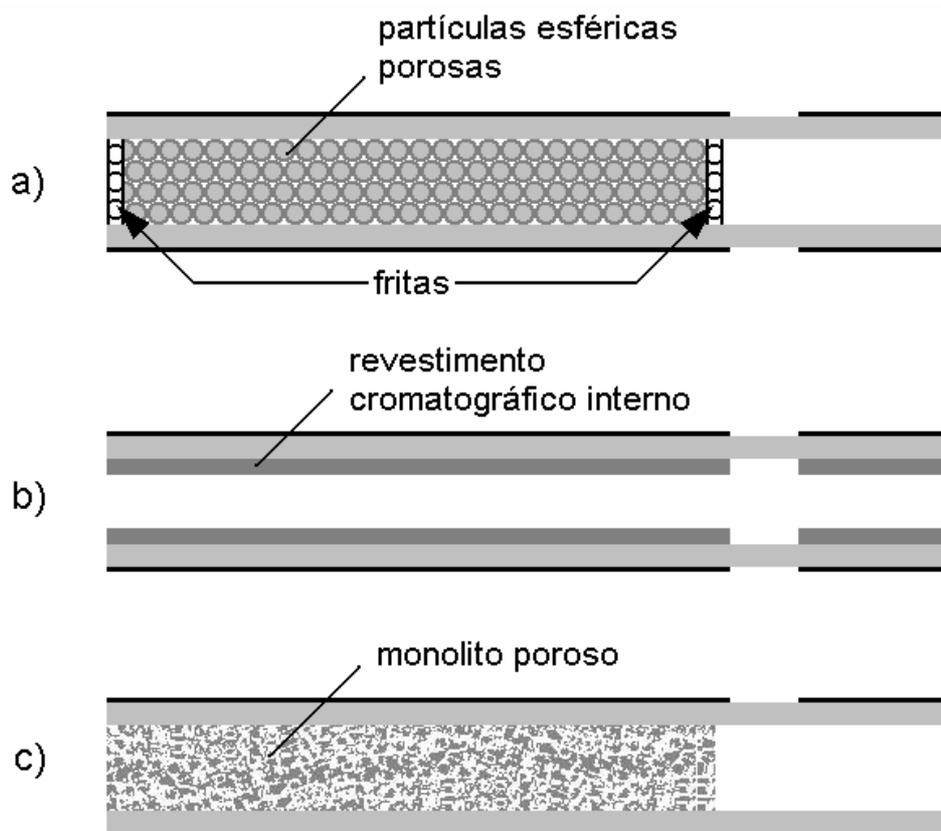


Figura 1.14. Representação de três tipos de colunas usadas em CEC: (a) coluna recheada com material particulado; (b) coluna tubular aberta; e (c) coluna monolítica.

Com relação a outras técnicas, a eletrocromatografia capilar tem o privilégio de desfrutar da grande seletividade da HPLC e da alta eficiência da CE, além de outras vantagens já citadas no item 1.1. A CEC abrange as análises de vários tipos de compostos, desde os iônicos aos moleculares e dos polares aos apolares. Deve-se ressaltar que os volumes gastos de reagentes, padrões e amostra são mínimos, marca herdada da CE, por se tratar da mesma instrumentação utilizada. A grande disponibilidade e variedade dos possíveis reagentes utilizados no processo de fabricação e o custo relativamente baixo tornam a CEC uma alternativa viável e bastante atraente no contexto analítico.

Uma outra grande vantagem está na utilização de colunas capilares recobertas com revestimento de poliacrilato, que é suficientemente transparente à luz ultravioleta próximo ao visível e à luz visível. Esta característica facilita a visualização da solução de polimerização no interior do capilar – o que permite controlar a injeção desta e de outras soluções, bem como observar a formação do

monolito. Além disso, é possível que seja feita a polimerização fotoiniciada sem a necessidade de remoção do revestimento polimérico que protege a coluna. Deve ser notado que a utilização da polimerização fotoiniciada sem a remoção do revestimento capilar é, até agora, um fato inédito, tendo-se em vista que capilares deste tipo somente são fabricados por uma empresa brasileira, a *Microtube* e estão em fase inicial de comercialização.

1.4 Objetivos

Este projeto teve como proposta central o estudo e otimização do processo de preparação de fases estacionárias monolíticas polimerizadas por fotoiniciação pelo método sol-gel, para posterior utilização em Eletrocromatografia Capilar.

1.5 Referências

- 1 – Hilder, E.F.; Svec, F.; Fréchet, J.M.J., *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1044, 3.
- 2 – Li, W.; Fries, D.P.; Malik, A., *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1044, 23.
- 3 – Svec, F.; Peters, E.C.; Sykora, D.; Frechet, J.M.J., *J. Chromatogr. A*, **2000**, 887, 3.
- 4 – Siouffi, A.-M., *J. Chromatogr. A*, **2003**, 1000, 801.
- 5 – Akos, V., *J. Chromatogr. A*, **2005**, 1079, 50.
- 6 – Faria, A.M.; Bottoli, C.B.G.; Jardim, I.C.S.F.; Collins, C.H., *Quím. Nova*, **2006**, 29 (2), 300.
- 7 – Tavares, M.F.M., *Quím. Nova*, **1996**, 19, 173.
- 8 – Baker, D.R., *Capillary Electrophoresis*, **1995**, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 9 – Tavares, M.F.M., *Quím. Nova*, **1997**, 20, 493.
- 10 – Smith, J.H., *Chromatographic Properties of Silica-Based Monolithic HPLC Columns* (Tese de doutorado), **2002**, Blacksburg, VA.

- 11 – Dittmann, M.M.; Rozing, G.E, *J. Chromatogr. A*, **1996**, 744, 63.
- 12 – Jiang, T.; Jiskra, J.; Claessens, H.A., Cramers, C.A., *J. Chromatogr. A*, **2001**, 923, 215.
- 13 – Zou, H.; Huang, X.; Ye, M.; Luo, Q., *J. Chromatogr. A*, **2002**, 954, 5.
- 14 – Gusev, I.; Huang, X.; Horvath, C., *J. Chromatogr. A*, **1999**, 855, 273.
- 15 – Brinker, C.J.; Sherrer, G.W., *Sol-Gel Science – The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, **1990**, Academic Press, San Diego.
- 16 – Amatani, T.; Nakanishi, K.; Hirao, K.; Kodaira, T., *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 2114.
- 17 – Dulay, M.T.; Quirino, J.P.; Bennett, B.D.; Kato, M.; Zare, R.N., *Anal. Chem.*, **2001**, 73, 3921.
- 18 – Kato, M.; Sakai-Kato, K.; Toyo'oka, T.; Dulay, M.T, *J. Chromatogr. A*, **2002**, 961, 45.
- 19 – Skoog, D.A.; Holler, F.J; Nieman, T.A., *Princípios de Análise Instrumental*, **2002**, 5ª Ed., Bookman, Porto Alegre.
- 20 – Smith, N., *Capillary ElectroChromatography*, **1999**, Beckman Coulter, Inc., Fullerton.
- 21 – Ikegami, T.; Tanaka, N., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2004**, 8, 527.

CAPÍTULO 2

MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E MÉTODOS

2.1 Capilares

Capilares de sílica fundida com dimensões variando de 70 a 200 μm de diâmetro interno (D.I.) e 375 μm de diâmetro externo (D.E.) revestidos com poliacrilato, adquiridos do Grupo de Materiais Fotônicos do Departamento de Química Geral e Inorgânica da Universidade Estadual Paulista (UNESP) de Araraquara, foram utilizados no desenvolvimento e otimização da confecção das colunas monolíticas para CEC. Estes foram produzidos a partir de tubos de sílica de alta pureza (preforma) em uma torre de “puxamento” montada nas dependências do Instituto de Química da UNESP-Araraquara. A temperatura de fundição variou de 1850 a 2050 $^{\circ}\text{C}$ e a velocidade do puxamento foi de 8 a 12 m/min. O revestimento foi obtido pela cura de acrilato (*Borden Chemical*) com lâmpada de xenônio montada na torre. O esquema da torre (adaptado), feito por Wätzig [1] é mostrado na Figura 2.1.

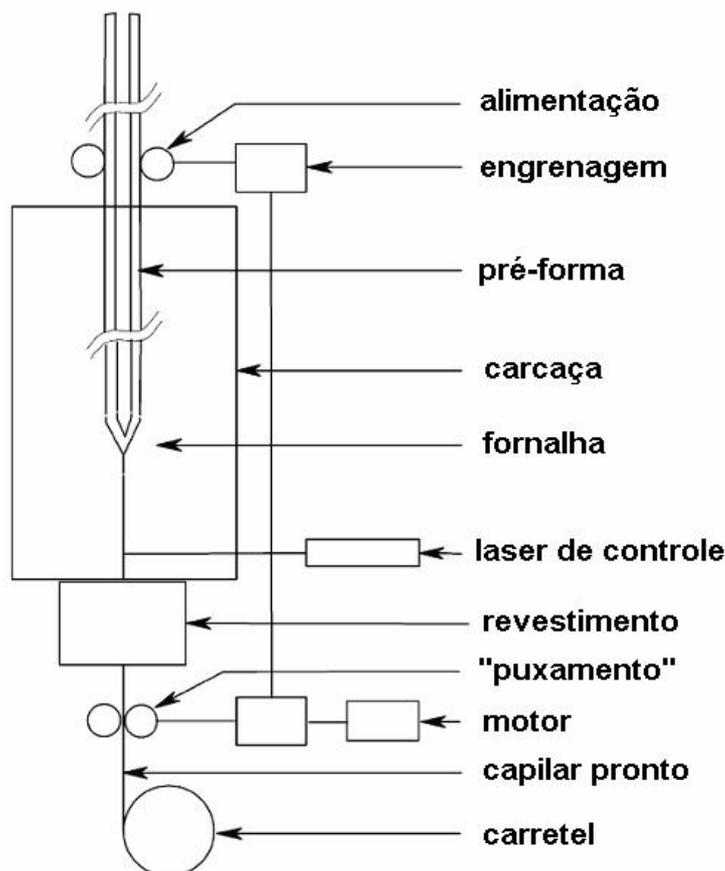


Figura 2.1: Montagem da torre de “puxamento” de capilares de sílica fundida e fibras ópticas.

2.2 Reagentes e Padrões

Os reagentes e solventes utilizados no preparo de eletrólito condutor e na preparação das colunas monolíticas são os seguintes: metacriloxipropiltrimetoxisilano (MPTMS-98%) – *Acros Organics* (New Jersey, EUA); óxido de bis(2,4,6-trimetilbenzoil)-fenilfosfino (Irgacure 819) – *Ciba* (São Paulo, Brasil); tolueno (alto grau de pureza) – *Beckman* (Fullerton, EUA); acetonitrila (alto grau de pureza) – *J.T. Baker* (Phillipsburg, EUA); etanol e metanol – *Quimex* (Tubarão, Brasil); ácido clorídrico - *Vetec* (Rio de Janeiro, Brasil);

Padrões de pireno (99,0%) (Buchs, Suíça), propilbenzeno (99,0%) (Sacramento, EUA) e fenantreno (97,0%) (Tokyo, Japão) foram comprados da *Fluka*.

Os tampões e soluções foram preparados com água purificada por deionizador *Millipore* (Milli-Q system, *Millipore*, Bedford, MA, EUA). Solução de acetato de amônio 50 mmol L⁻¹ foi preparada pela adição de 143 µL de ácido acético 99,7 % – *Vetec* (Rio de Janeiro, Brasil) e 664 µL de hidróxido de amônio 29 % – *Quimex* (Tubarão, Brasil).

2.3 Agitadores

Para o estudo do processo de mistura dos reagentes utilizados na solução de polimerização, foram utilizados um agitador magnético para cinco amostras (cinco pontos separados) (*Fisatom*, São Paulo, Brasil), um equipamento com sonda de ultra-som e uma turbina (*Turrax®*), composta de pás fixas e rotatórias.

2.4 Outros materiais

Seringas de 5 mL (*Plastipak*, Becton Dickinson), agulhas de 0,70 mm (D.E.) e 30 mm de comprimento e fita de politetrafluoretileno (PTFE) (*veda-rosca - Firlon S.A.*) de 18 mm de largura foram utilizadas nas injeções manuais de líquidos nos capilares, conforme o esquema da Figura 2.2.

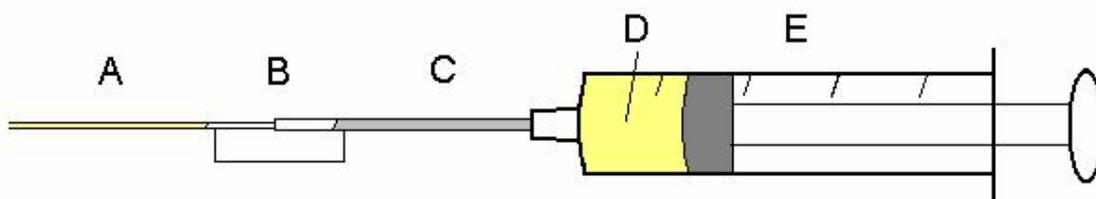


Figura 2.2. Sistema de injeção de líquidos em capilares de 375 µm (D.E.). A) Capilar, B) veda-rosca para evitar vazamentos, C) agulha, D) líquido e E) seringa.

2.5 Equipamento de Eletroforese Capilar

Para a execução deste projeto foi utilizado um equipamento comercial de Eletroforese Capilar (modelo HP3d CE, *Agilent Technologies*, Palo Alto, USA) (Figura 2.3), equipado com fonte de alta tensão (± 30 kV), DAD (detector de arranjo de diodos), com controle de temperatura no interior do cartucho por passagem de ar forçado e software para controle, aquisição e tratamento de dados (*HP ChemStation 6.0*) instalado em um microcomputador conectado ao equipamento.



Figura 2.3. Equipamento de Eletroforese Capilar.

2.6 Câmaras de Radiação Ultravioleta

Para a fotopolimerização dos monolitos, foi construída uma câmara de luz ultravioleta específica para comportar os capilares estendidos (Figura 2.4), já que câmaras comerciais deste tipo não possuem as dimensões desejadas e são bastante caras. Esta câmara consiste em uma caixa feita de madeira MDF (*Medium Density Fiberboard*) contendo quatro lâmpadas fluorescentes negras e duas lâmpadas fluorescentes brancas de 15 W de potência cada. Todas as paredes internas da câmara são espelhadas. Os itens necessários, como a madeira, os espelhos, as lâmpadas, reatores etc. foram comprados em comércio local com recursos da FAPEMIG. O Capítulo 5 é dedicado ao processo de fabricação, às características e resultados obtidos especificamente com a câmara.

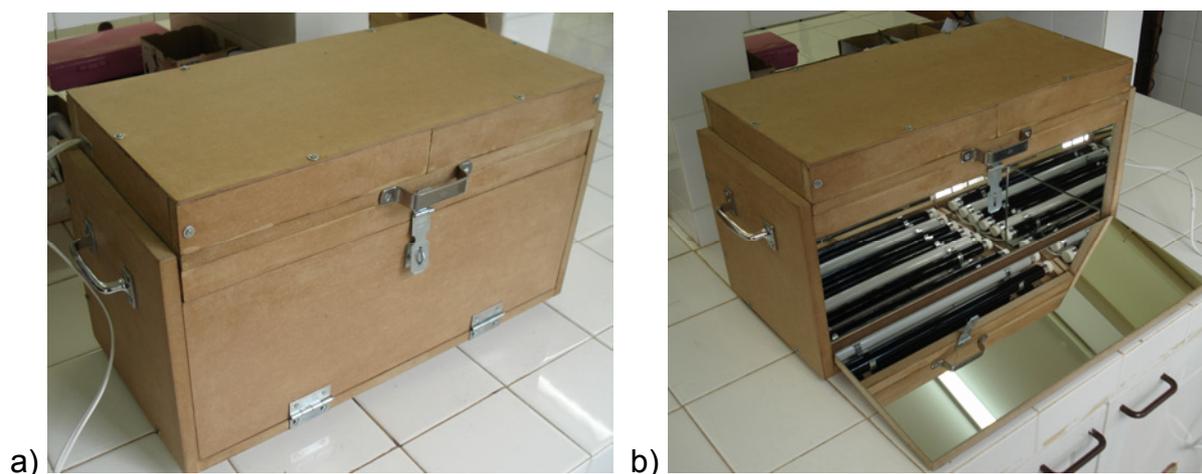


Figura 2.4. Fotografias digitais da câmara de luz ultravioleta mostrando a) sua aparência externa e b) a porta frontal aberta.

Além da câmara construída, foi utilizado no Departamento de Química Geral e Inorgânica da UNESP-Araraquara um equipamento de luz ultravioleta da marca *Kota*, (modelo *Versalis*) (Figura 2.5) do Grupo de Pesquisa de Materiais Fotônicos do Instituto de Química da UNESP. Este reator fotoquímico, construído com estruturas não metálicas, é equipado com sistema de vácuo, lâmpada de vapor de mercúrio que emite luz progressiva de alta intensidade na região UV-Vis e temporizador eletrônico. O espaço interno da câmara, disponível para a amostra,

possui formato cilíndrico com diâmetro em torno de 10 cm e altura em torno de 7 cm. As paredes internas são espelhadas, inclusive a bandeja de apoio da amostra.



Figura 2.5. Foto-reator Kota Versalis mostrando a aparência externa e o espaço disponível para amostra, no canto inferior direito [2].

2.7 Mufla

Para os testes de tentativa de polimerização térmica foi utilizada uma mufla EDG3P-S 3000 (*EDG Equipamentos, Brasil*) com capacidade para três programas de controle de temperatura, velocidade de aquecimento e tempo de permanência.

2.8 Espectrofotômetros

As medidas de emissão das lâmpadas da câmara construída neste projeto foram feitas em um espectrofotômetro UV-Vis, modelo USB 2000, (*Ocean Optics, EUA*) equipado com cabo de fibra ótica e detector CCD.

As medidas de absorção de reagentes foram feitas em um espectrofotômetro modelo UV-1601PC (*Shimadzu, Kyoto, Japan*) equipado com emissão de duplo feixe simultâneo. Celas de quartzo com caminho ótico de 1,00 cm foram usadas nas leituras.

2.9 Microscópio

Para confirmação da presença de monolito no interior de alguns capilares, foi utilizado, no Instituto de Química da UNESP, um microscópio ótico modelo DMR e marca *LEICA*, com ocular de 10X, objetivas de 4X, 10X, 20X, 50X e 100X (ampliação máxima de 1000X), trinocular com câmera digital (*Kodo*) e Software para análise de imagem Q-Win.

2.10 Câmera Digital

Para obtenção das fotografias contidas neste texto foi utilizada uma câmera digital Cyber-Shot DSC-W30 (*Sony*, Japão) equipada com lente *Carl Zeiss Vario-Tessar* (6 elementos em 5 grupos com 3 elementos esféricos) com função *macro*, que permite a focalização de objetos de dimensões reduzidas (como os capilares) em até 2 cm de distância. Com resolução de 6 M pixels (2816 x 2112 pixels), captura imagens com grande definição. Com o emprego desta câmera, foi possível detectar detalhes nas colunas imperceptíveis a olho nu.

2.11 Processo Sol-Gel

Entende-se como “*sol*” uma dispersão de partículas coloidais (1-1000 nm) em um líquido. “*Gel*” é uma rede rígida interconectada com poros de dimensões sub-micrométricas e cadeias poliméricas cujo comprimento médio ultrapassa um micrômetro. “*Sol-gel*” é o nome dado a processos em que um sol sofre uma transição, onde sua viscosidade aumenta até formar o gel [3].

Os reagentes usualmente utilizados incluem um precursor polimérico – geralmente alcóxidos de silício ($\text{Si}(\text{OR})_4$), um solvente para dispersar o precursor, água e um catalisador – ácido, que orienta a formação de redes poliméricas como os monolitos, ou básico, que orienta a formação de partículas esféricas [4].

As reações fundamentais deste processo são a hidrólise e a condensação (Figura 2.6). Quando há um número suficiente de precursores hidrolisados que se condensaram, o solvente torna-se incapaz de solubilizar as cadeias poliméricas então formadas. Este processo é entendido como *geleificação*. Inicia-se, assim, a

separação de fases do solvente e do gel, à medida que aumenta o grau de condensação. Este fenômeno é conhecido como “*spinodal decomposition*” [5,6]. O solvente, quando eliminado, dá lugar aos poros (por isso é denominado *porogênio*) cujo tamanho pode ser devidamente controlado. Em uma análise com coluna monolítica, os poros maiores (macroporos), funcionam como canais para passagem de fase móvel, enquanto os poros menores, (mesoporos), são responsáveis pelas características de retenção da FE.

As reações genéricas da catálise ácida [7] são apresentadas nas Figuras 2.6 e 2.7:

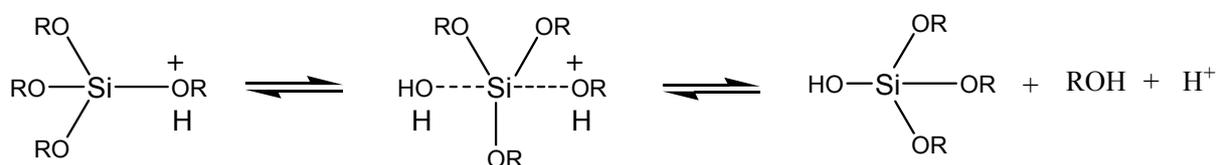


Figura 2.6. Reação de hidrólise de um alcóxido de silício em catálise ácida.

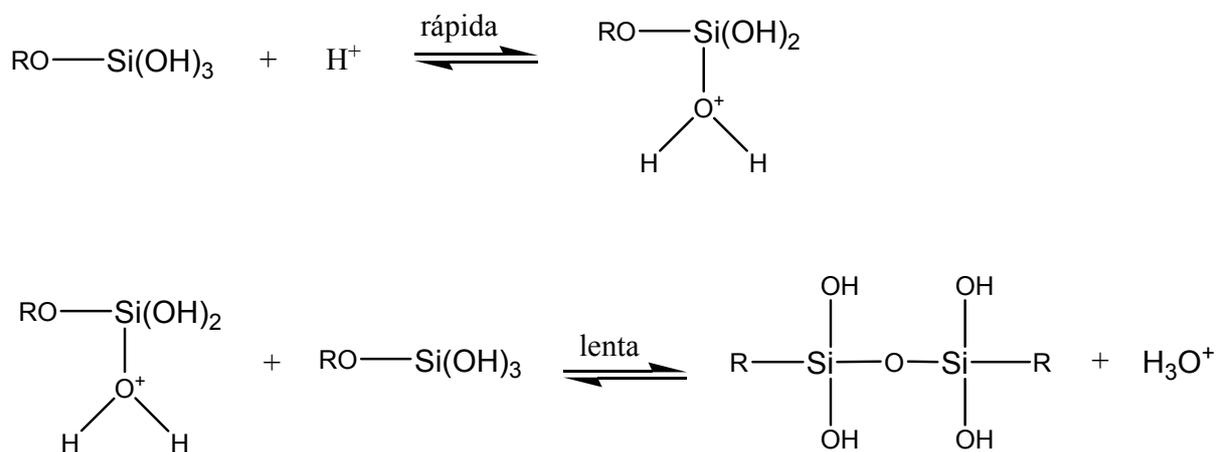


Figura 2.7. Reação de condensação de um alcóxido de silício em catálise ácida.

2.11.1 Preparo do Sol

Neste trabalho, o sol é obtido a partir da mistura de duas soluções, onde uma A) é a solução monomérica contendo o *metacriloxipropiltrimetoxisilano* (MPTMS),

catalisador e solução diluída de HCl e a outra B) é a solução porogênica, constituída de fotoiniciador diluído em tolueno.

2.11.1.1 Solução monomérica (A)

A solução monomérica é preparada misturando-se MPTMS (precursor polimérico) com HCl 0,1 mol L⁻¹ (catalisador) numa determinada razão molar de MPTMS / H₂O (a água utilizada é a da própria solução aquosa de HCl). Quando a mistura é agitada ocorre a hidrólise do MPTMS, liberando-se metanol no meio e formando-se grupos –OH presos ao silício (silanóis). Nestas mesmas condições, ocorre a condensação do MPTMS (hidrolisado) nos grupos –OH, liberando-se água (consumo de “H⁺” e liberação de “H₃O⁺”) (veja as reações nas Figuras 2.6 e 2.7) e formando-se dímeros e trímeros, conforme mostra a Figura 2.8.

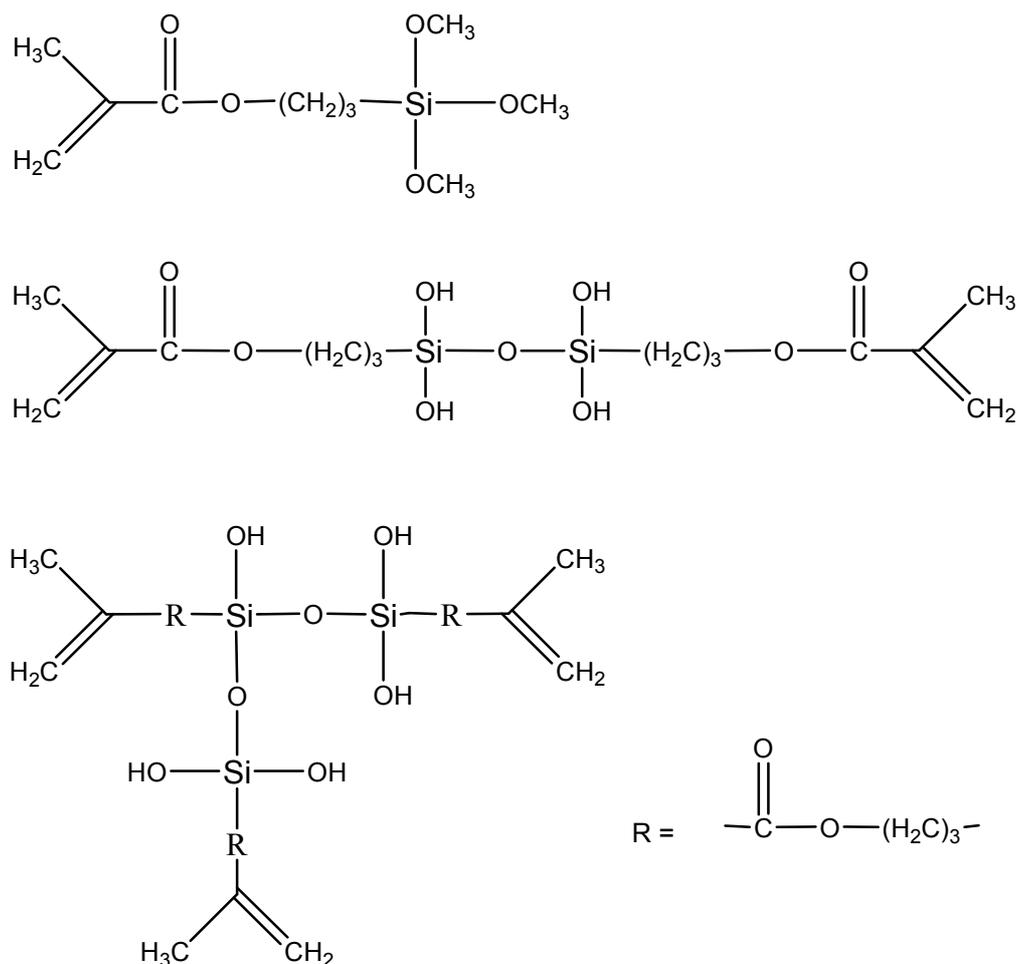


Figura 2.8. Estrutura do MPTMS (no topo), dímero formado da condensação de duas moléculas de MPTMS hidrolisadas (no meio) e um trímero (na parte inferior da figura).

2.11.1.2 Solução porogênica (B)

Num processo sol-gel, o porogênio, além de solubilizar os reagentes, tem o papel de servir como modelador dos macro-poros. Diferentes porcentagens de porogênio acarretam em diferentes tamanhos dos poros. Ao tolueno (porogênio) é adicionado o reagente fotoiniciador, óxido de bis(2,4,6-trimetilbenzoil)-fenilfosfino (Irgacure 819), que forma radicais quando exposto à luz UV e visível até 450 nm, aproximadamente). Alguns destes processos foram estudados. Cada parâmetro que ainda não havia sido otimizado foi baseado na literatura [8,9].

2.11.2 Polimerização *in situ*

O capilar pode ser preenchido com o sol no equipamento de CE utilizando-se pressão positiva ou com o auxílio de uma seringa. O capilar preenchido é colocado na câmara de luz UV-Vis e exposto à radiação por um tempo determinado. O fotoiniciador absorve a luz e forma radicais, que reagem quebrando a ligação π das duplas ligações C=C do precursor (Figura 2.9). Com a ruptura da ligação, os dímeros e trímeros se adicionam mutuamente, formando-se o polímero no interior do capilar (Figura 2.10).

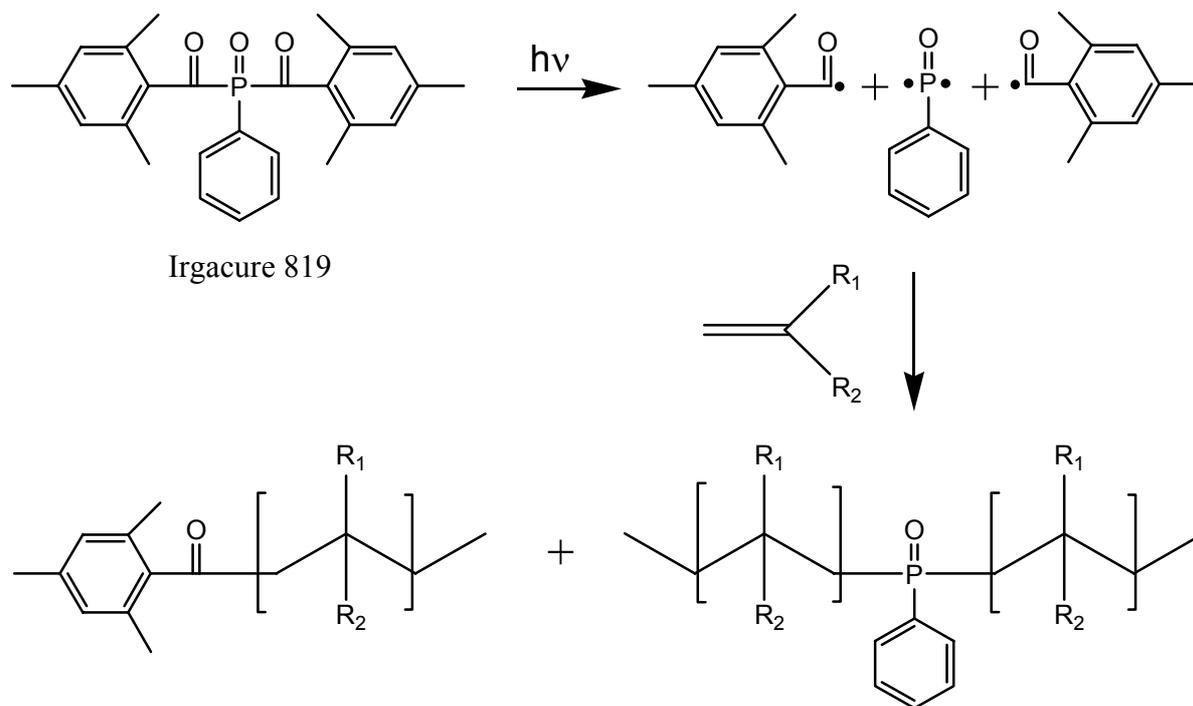


Figura 2.9. Fotólise do Irgacure 819 e iniciação da polimerização de um precursor genérico.

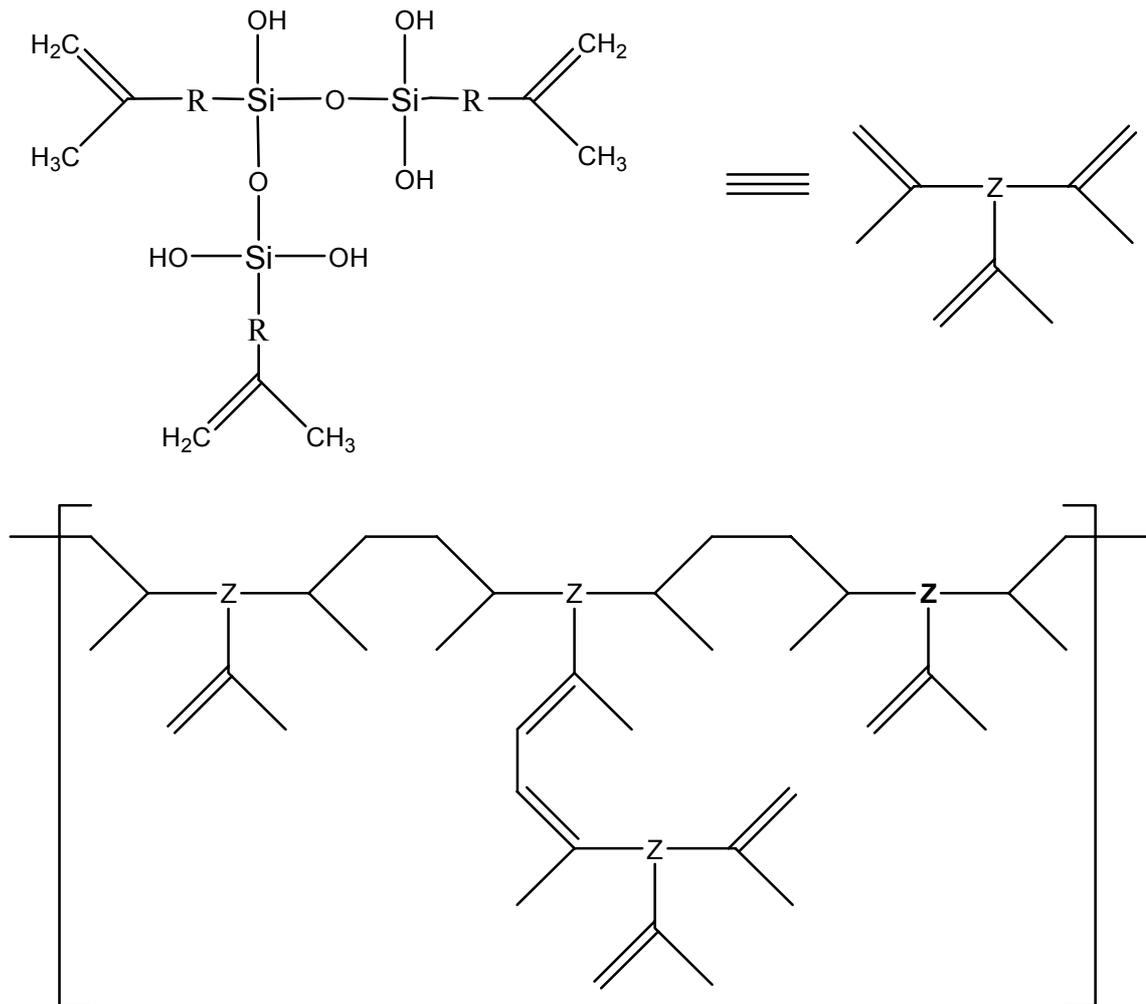


Figura 2.10. Polímero formado a partir de trimeros de MPTMS (simplificado).

2.12 Referências

- 1 – Wätzig, H.; Kaupp, S.; Graf, M., *Trends Anal. Chem.*, **2003**, 22(10), 588.
- 2 – Eunice Soluções, *site* disponível em: <http://www.sorridentche.com.br/reprenice/kota_equipamentos.asp>. Acessado em 10/2006.
- 3 – Buckley, A.M., *A Materials Science Companion*, American Chemical Society, Washington, D.C., **1993**.
- 4 – Brinker, C.J.; Sherrer, G.W., *Sol-Gel Science, The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Academic Press, San Diego, **1990**.
- 5 – Nakanishi, K., *J. Porous Mater.*, **1997**, 4, 67.

6 – Ishizuka, N.; Minakuchi, H.; Nakanishi, K.; Soga, N.; Tanaka, N., *J. Chromatog. A*, **1998**, 797, 133.

7 – Ribeiro, S.J.L.; Messaddeq Y.; Nassar, E.J., *Quím. Nova*, **2002**, 25, 27.

8 – Dulay, M.T.; Quirino, J.P.; Bennett, B.D.; Kato, M.; Zare, R.N., *Anal. Chem.*, **2001**, 73, 3921.

9 – Kato, M.; Sakai-Kato, K.; Toyo'oka, T.; Dulay, M.T.; Quirino, J.P.; Bennett, B.D.; Zare, R.N., *J. Chromatog. A*, **2002**, 961, 45.

10 – Gong, W.-J.; Zhang, Y.-J.; Zhang, Y.-P.; Choi, S.-H., *Chin. Chem. Lett.*, **2006**, 17(6), 813.

CAPÍTULO 3

PREPARAÇÃO DAS COLUNAS MONOLÍTICAS POLIMERIZADAS POR FOTOINICIAÇÃO

3.1 Introdução

Geralmente, a fabricação de uma coluna monolítica pelo método *sol-gel* consiste a) no pré-tratamento do capilar utilizado como suporte; b) no preparo do sol contendo o precursor polimérico, solvente orgânico, catalisador ácido e água; c) no preenchimento do capilar com o sol, com posterior polimerização *in situ*, quando se forma o gel e d) no pós-tratamento da coluna [1].

Como já foi citado no Capítulo 1, o processo de polimerização pode ser de dois tipos, sendo um deles a termopolimerização ou polimerização termoiniciada, onde o capilar contendo o sol é submetido a um tratamento térmico e o outro a polimerização fotoiniciada, método onde é incidida uma radiação eletromagnética ao longo do capilar contendo o sol. Enquanto a termopolimerização depende de um sistema de aquecimento como estufa, mufla ou banho-maria, a polimerização fotoiniciada necessita de uma câmara com emissão de luz UV. Colunas monolíticas preparadas por procedimentos distintos podem possuir diferentes características eletrocromatográficas. Se, por exemplo, um monolito é obtido a partir de um alcóxido de silício e a ele é dado um tratamento térmico acima de 300 °C, a tendência é que a porção orgânica da estrutura polimérica seja perdida [2]. A FE monolítica (FEM), somente à base de sílica, apresentará, então, caráter hidrofílico, ou seja, de fase normal. Do contrário, se cadeias orgânicas hidrofóbicas forem mantidas ligadas na estrutura monolítica, esta terá tendência em apresentar caráter de fase reversa.

Neste trabalho o método empregado e otimizado é o de polimerização fotoiniciada, com o qual é possível incidir a luz UV no capilar e esta é absorvida pelo fotoiniciador presente no sol, transformando-o em gel. Os detalhes de cada etapa são discutidos a seguir.

3.2 Tratamentos preliminares do capilar

3.2.1 Remoção do revestimento de poliacrilato

Um dos primeiros testes feitos para se adaptar o método *sol-gel* por polimerização fotoiniciada ao uso de capilares com revestimento externo de

poliacrilato foi verificar a necessidade ou não de remoção deste revestimento. Capilares com diferentes diâmetros internos foram preenchidos com o sol e irradiados com ou sem o revestimento. A remoção foi feita após o pré-tratamento, queimando-se o polímero protetor. O mecanismo deste teste consiste em incidir a luz UV, que atravessa o revestimento de poliacrilato e a sílica do capilar e é absorvida pelo Irgacure 819 (fotoiniciador) presente no sol (Figura 3.1), transformando-o em gel. Foi observado que a presença do revestimento não é fator limitante para a polimerização fotoiniciada, já que todos os capilares testados (com e sem revestimento) apresentaram suas porções de monolito após a irradiação.

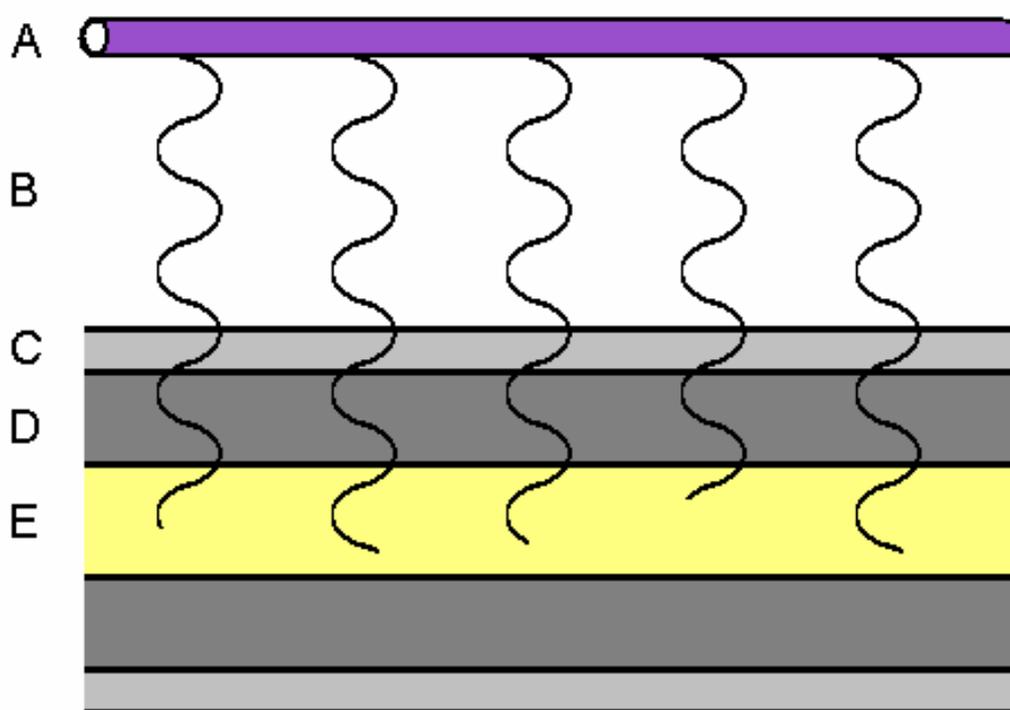


Figura 3.1 Esquema da incidência de luz num sol no interior de um capilar revestido com poliacrilato, mostrando os itens: A) lâmpada UV, B) representação da radiação UV, C) revestimento externo de poliacrilato, D) parede de sílica do capilar e E) sol absorvendo radiação.

Este comportamento se deve a dois fatores: a) suficiente transparência (na região em torno de 370 nm) para uma dada espessura do revestimento (em torno de 30 μm) de poliacrilato e b) à grande sensibilidade e eficiência do Irgacure 819 em uma ampla faixa de comprimentos de onda abaixo de 450 nm para formar os radicais indispensáveis para este tipo de polimerização (veja Figura 2.9, Capítulo 2).

Com isso, foi possível manter presente o revestimento dos capilares usados nos testes seguintes. O espectro de absorção do poliácrlato é mostrado na Figura 3.2.

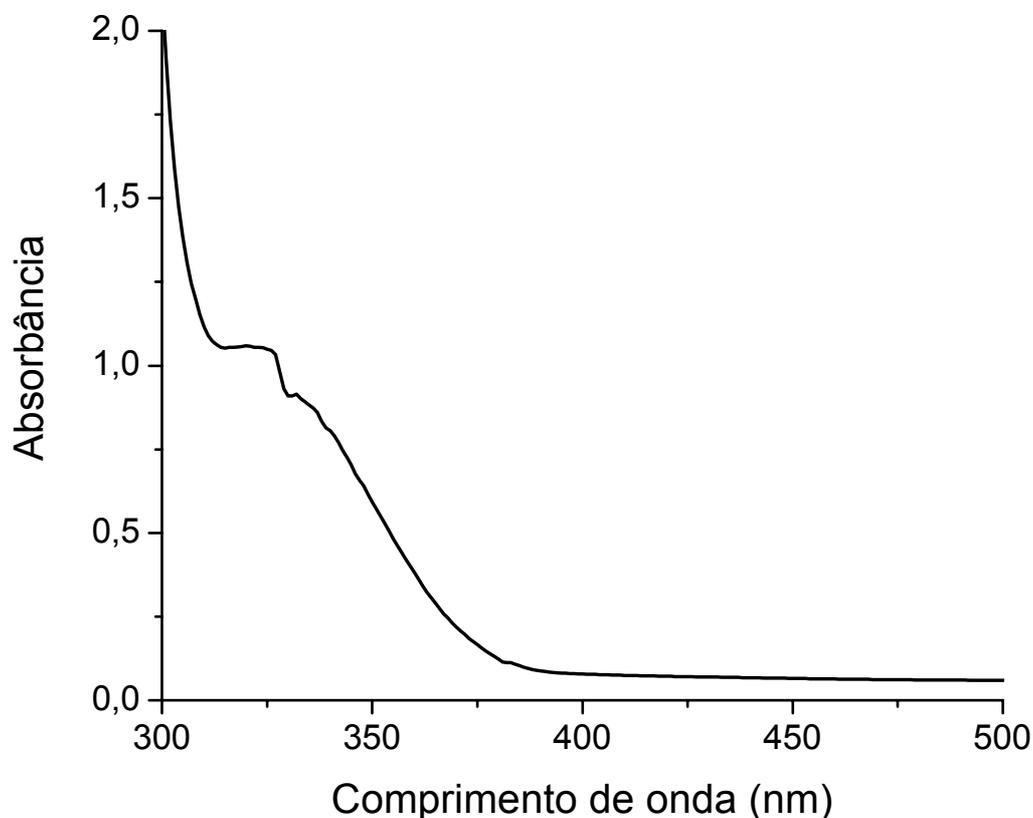


Figura 3.2. Espectro de absorbância de um filme de poliácrlato de espessura de 0,3 mm.

3.2.2 Pré-tratamento do capilar

A finalidade do pré-tratamento do capilar é aumentar a concentração de grupos silanóis na parede interna do capilar, já que estes representam o principal sítio de ligações para a FE criada, permitindo assim, que o monolito formado esteja mais fortemente ligado ao suporte.

O pré-tratamento empregado por Sondergeld [3] consiste em lavar o capilar seguindo as seguintes etapas: a) *flush* de NaOH 1,0 mol L⁻¹ (5 min); b) repouso com esta solução (10 min); c) *flush* com água deionizada seguido de *flush* de ar; d) *flush* com HCl 1,0 mol L⁻¹ (2 min); e) *flush* com tolueno (10 min); f) *flush* com MPTMS 10% em tolueno (8 min) e repouso por 2 h; g) *flush* com tolueno por 5 min e h)

passagem de ar (5 min). Neste caso, o MPTMS é utilizado apenas como agente para ancoragem da FE. Dulay *et al* [3,4] propuseram um pré-tratamento da superfície do capilar revestido com poliimida apenas com a passagem do próprio sol, contendo MPTMS, utilizado como precursor polimérico.

Este processo não resultou em nenhum ganho significativo com relação à ancoragem. Além disso, a passagem de sol em todo o comprimento do capilar pode resultar na polimerização em regiões indesejadas, já que toda a extensão da coluna é revestida com material transparente. Logo, apenas o *flush* de NaOH 1,0 mol L⁻¹ por 20 minutos, seguido de repouso por 10 minutos com esta solução, com subsequente passagem de água deionizada por 5 minutos e passagem de ar, também por 5 minutos, foram suficientes para promover uma boa ancoragem. Este procedimento pode ser feito com o sistema de injeção manual (seringa), porém, é recomendável a utilização do equipamento de CE para a injeção, que é obviamente mais segura e reprodutível.

3.3 Preparo do sol

Dependendo da quantidade de água adicionada para a reação de hidrólise (veja seção 2.11), pode haver um excesso de fase aquosa que aparece como uma segunda fase (imiscível) quando são misturadas as soluções A e B. Em função disso, foram feitos alguns testes com cada fase separada, e com a emulsão. Alíquotas de cada fase foram irradiadas em capilares de 5 cm e em reservatórios de 1 mL. Na fase aquosa, não houve polimerização, enquanto na fase orgânica foi visível a formação de monolitos bastante homogêneos tanto no reservatório quanto no interior do capilar (Figura 3.3).

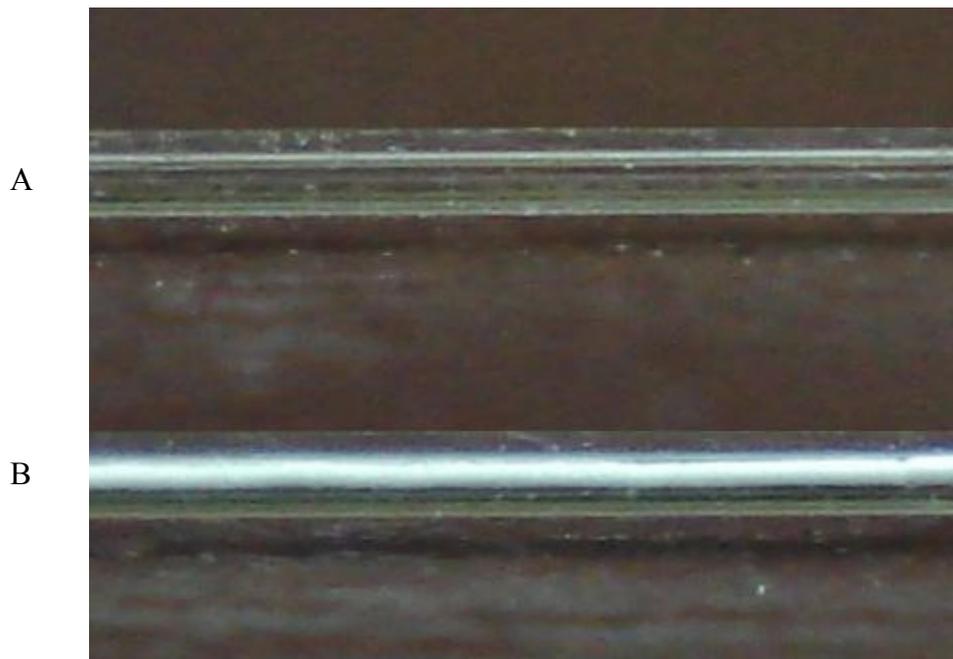


Figura 3.3. Fotografia digital de um capilar vazio (A) e um capilar preenchido com monolito (B). D.I. = 125 μm e D.E. = 375 μm .

3.3.1 Efeito dos agitadores

Para o teste feito com a emulsão foram usados três tipos de agitadores: um agitador magnético, um dispositivo cilíndrico que é inserido na solução e produz ultra-som e uma turbina (Turrax®), que também consiste em um dispositivo cilíndrico, porém, composto de pás fixas e pás rotatórias. Pode ser observado na Figura 3.4 que o monolito mais homogêneo foi obtido usando-se o Turrax (C). No monolito obtido por agitação magnética (A(agit)) as falhas circulares são oriundas da formação de bolhas de água que não foram bem dispersas na mistura. Não houve uma boa formação de fase polimérica quando usado o ultra-som (B). Em (A(rep)) foi tomada uma alíquota apenas da fase orgânica da mistura deixada em repouso, que resultou em monolito com homogeneidade mais próxima do monolito C tanto no reservatório quanto no capilar (Figura 3.5).



Figura 3.4. Monolitos obtidos por diferentes tipos de agitadores em reservatórios de 1 mL, onde A(agit): agitador magnético; A(rep): agitador magnético, apenas com fase orgânica após repouso (separação da fase aquosa); B: ultra-som e C: Turrax®.

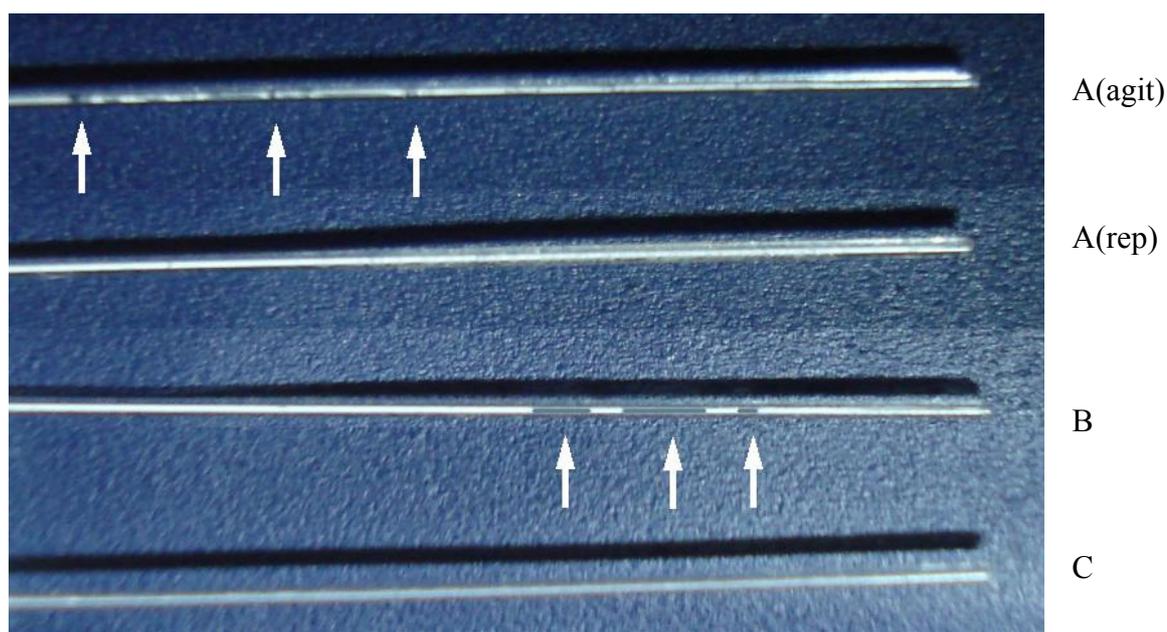


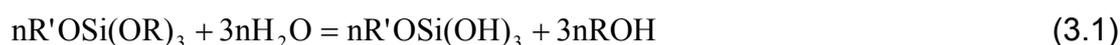
Figura 3.5. Monolitos obtidos por diferentes tipos de agitadores em capilares de 125 μm D.I., onde A(agit): agitador magnético; A(rep): agitador magnético, com fase orgânica deixada em repouso; B: ultra-som e C: Turrax®. As setas indicam falhas ou ausência de monolito.

Apesar de o agitador Turrax ter fornecido o melhor resultado, este possui dimensões relativamente elevadas, requerendo um volume de solução (a ser agitada) maior, tornando o processo de otimização inviável. Enquanto são necessários, no mínimo, 20 mL de sol para se agitar com o Turrax, com um frasco

pequeno e um agitador magnético é possível agitar apenas 5 mL de sol (quatro vezes menos). Assim, quando há formação de uma segunda fase, a mistura é apenas deixada em repouso e é tomada a fase orgânica como sol, não sendo necessário o Turrax ou o ultra-som. No entanto, é conveniente o uso de um agitador magnético que possua vários pontos de agitação, o que possibilita uma maior demanda de testes, sem que haja problemas de repetibilidade causados pelo uso de diferentes modelos de agitadores.

3.3.2 Razão MPTMS / H₂O

Como a água é fundamental no processo de hidrólise, foi verificado o uso de diferentes quantidades de água para a hidrólise do MPTMS. Geralmente, a quantidade de água deve ser maior do que a calculada na equação abaixo [6]:



O ideal é usar uma quantidade mínima por questão de conveniência, mas que seja suficiente para promover uma hidrólise eficiente. Foram feitos testes com as razões molares (MPTMS / H₂O) 1/0, 1/1, 1/2, 1/3, 1/4 e 1/6. A formação de monolito nos capilares ocorre quando a razão vai de 1/3 a 1/6. Com 2 mols de água por mol de MPTMS, a ocorrência de fase monolítica é quase nula. Porém, com 3 e 4, ela já é mais nítida. Acima de 4 mols, a aparência do monolito é a mesma e sem diferenças significativas na resistência mecânica – verificada nos reservatórios. Portanto, o valor ideal da razão molar foi de 1/4 (MPMTS / H₂O).

3.3.3 Porcentagem de porogênio

Talvez, o parâmetro de maior influência no preparo de uma coluna monolítica é a quantidade de porogênio utilizado num sol. Diferentes porcentagens (50, 70, 80, 85, 87 e 90% (v/v)) de tolueno em relação à solução monomérica contendo o MPTMS hidrolisado foram testadas. Com 50% de porogênio (porcentagem mínima testada), por exemplo, não se consegue eluir nenhum líquido pela coluna formada. Quando a porcentagem de tolueno aumenta, a porosidade se torna maior e solventes como etanol, metanol e água são transportados mais facilmente com

aplicação de pressão com seringa ou até mesmo por capilaridade. Porém, com o aumento da porosidade – ou diminuição do volume dos “domínios” (estruturas monolíticas secas), aumenta-se a fragilidade da coluna, o que também é percebido em monolitos feitos fora dos capilares. A coluna formada apenas com 10% de domínio (90% de porogênio) é muito fraca e acaba sendo arrastada com o solvente. A porcentagem maior de tolueno possível que não causou problemas desse tipo foi 87%. É importante lembrar que uma porosidade elevada acarreta em maiores taxas de transferência de massa de solventes pela fase estacionária – que é uma das vantagens das colunas monolíticas.

3.4 Polimerização *in situ*

Dois parâmetros importantes que foram estudados são o tempo de exposição à radiação e a quantidade de fotoiniciador usado. Como o trabalho de otimização foi feito em grande parte com a câmara de luz ultravioleta da *Kota* no Instituto de Química da UNESP, foi preciso uma otimização específica para ela.

3.4.1 Tempo de polimerização

Com a câmara *Kota*, em torno de um minuto já é possível ocorrer a solidificação do sol nos capilares e em torno de cinco minutos para a reação ocorrer nos reservatórios de 1 mL. O problema principal, que limitou uma boa otimização, é a falta de repetibilidade da emissão luminosa da lâmpada (vapor de mercúrio), quando esta é acesa. Além disso, ela libera uma grande quantidade de energia térmica, que aquece o sistema de polimerização e afeta a separação de fases durante a transição sol-gel – “*spinodal decomposition*” [7,8].

Já com câmara construída de lâmpadas fluorescentes negras e brancas, o aquecimento é minimizado pela própria natureza das lâmpadas e pelas amplas dimensões da caixa que facilita a dissipação de calor. Como a luminosidade é mais branda que a da câmara anterior, o tempo de exposição à radiação é maior (20 minutos para capilares e 30 minutos para os frascos de 1 mL), porém, o processo é indubitavelmente mais reprodutivo.

3.4.2 Porcentagem de Irgacure 819

A quantidade de fotoiniciador é expressa em termos de porcentagem de massa de Irgacure 819 por massa de MPTMS. O fabricante [9,10] sugere o uso de 0,1 a 1 % (m/m) do fotoiniciador para sistemas similares, mas com pouca quantidade de solvente, como resinas, vernizes etc. Foram feitos alguns testes em sóis *sem a adição de porogênio* e foi verificado que com apenas 0,1% de Irgacure 819 já é possível formar monolitos. Entretanto, em sistemas onde a porcentagem de solvente chega até a 90%, obviamente a quantidade de fotoiniciador deve ser maior para compensar a diluição. Fixando-se a porcentagem de tolueno em 85% (v/v), a relação de Irgacure 819 foi variada de 0,2 a 5% (m/m_{MPTMS}). Com 0,2 e 0,5% a formação de monolito foi precária, com muitas falhas observadas. Com 1%, as falhas são bem minimizadas e com 2%, obtém-se monolitos mais homogêneos. Como um exemplo, 3% (m/m_{MPTMS}) do fotoiniciador significa 31,2 mg deste composto para 1,00 mL de MPTMS (1,04 g). Mas, como é adicionado solvente (solução porogêncica) e solução de HCl, a chance de choque dos produtos da fotólise do Irgacure com os dímeros e trímeros do MPTMS é reduzida, devido à diluição. Considerando o volume total de sol (volume do MPTMS mais o de H₂O mais o de tolueno) sendo 10 mL têm-se, então, 0,3% de Irgacure (m/m_{sol}), valor dentro da faixa sugerida pela Ciba (de 0,1 a 1%). Acima de 3,5% (m/m_{MPTMS}) de Irgacure 819, não houve diferenças na estrutura monolítica, do ponto de vista macroscópico. Esta porcentagem foi, então, adotada como sendo ótima.

A Figura 3.6 mostra espectros de absorção do Irgacure 819 dissolvido em tolueno. Deve ser notado que existe uma banda com um máximo em 375 nm, coincidente com o máximo de emissão da lâmpada fluorescente negra (UV), a qual é discutida no Capítulo 5.

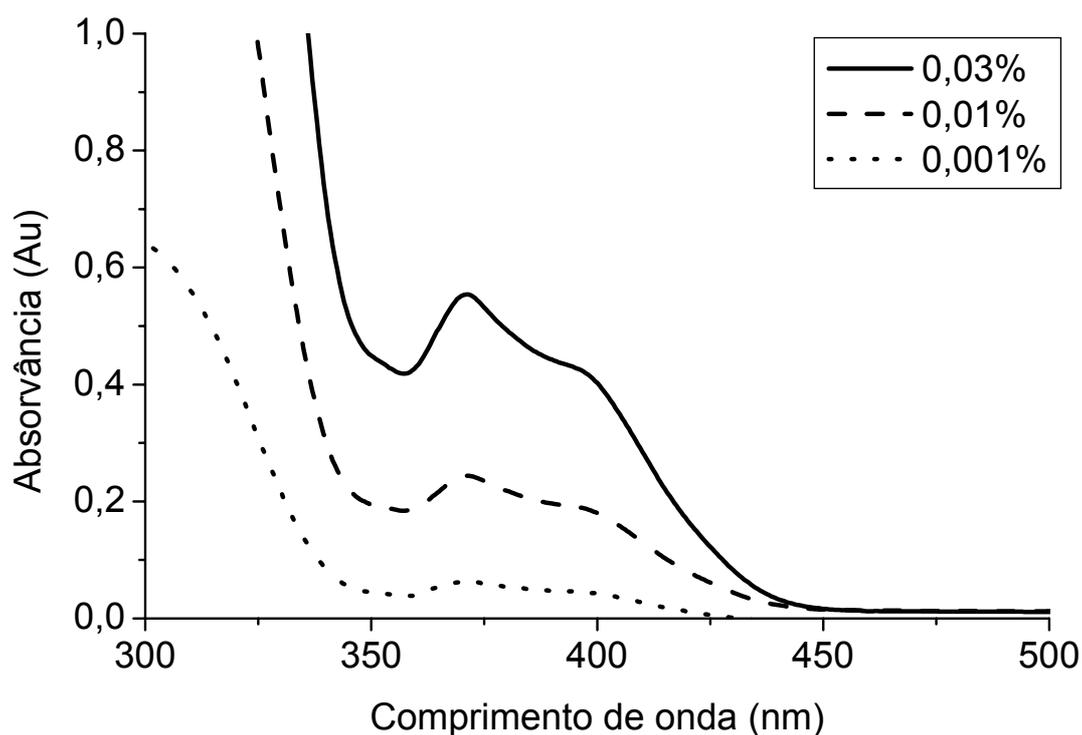


Figura 3.6. Espectro de absorção do Irgacure 819 em diferentes concentrações, expressas em % m/v. Dissolvido em tolueno.

3.4.3 Outros fotoiniciadores

Dois outros fotoiniciadores – *Irgacure 784* e *Canforquinona* (associado ao 2-(*dimetilamino*)*etilmetacrilato*) – também foram testados como possíveis substitutos do Irgacure 819. No entanto, para uma mesma quantidade de fotoiniciador, as eficiências de ambos são menores, além de produzirem monolitos mais escuros e mais frágeis do que os obtidos com o Irgacure 819. Com o intuito de diminuir tais fragilidades, foi adicionado o reagente *PEG dimetacrilato*, que é comumente usado para este fim. Porém, nenhum resultado satisfatório com relação à flexibilidade do gel (mesmo sem a adição de porogênio) foi observado (Figura 3.7).

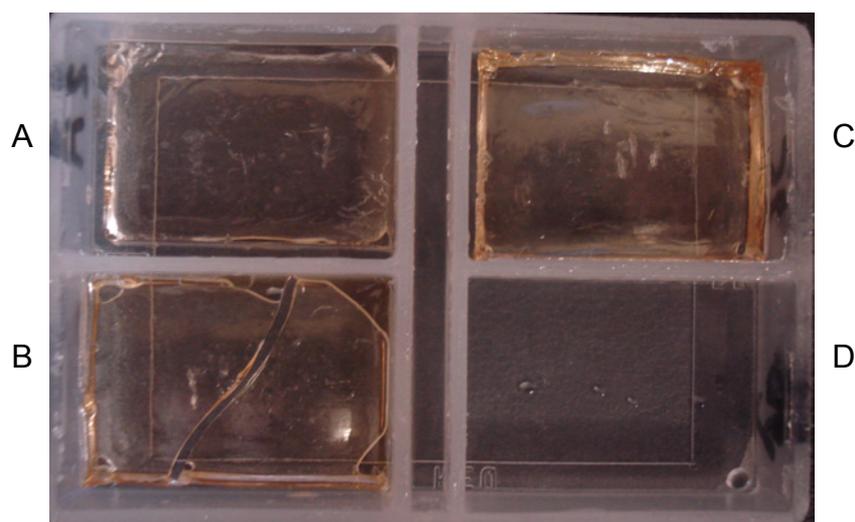


Figura 3.7. Monolitos obtidos com 10 % de PEG Dimetacrilato (m/mMPTMS), sem o porogênio e com diferentes quantidades de Irgacure 784, A: 0,1 %; B: 0,4 %; C:0,5 % e D: 0.

3.5 Pós-tratamento da coluna

3.5.1 Estufa

O monolito contido no capilar não é revelado logo após a exposição à radiação, embora a estrutura monolítica já esteja formada. O capilar é mantido em estufa a 60 °C por 24 h para eliminação do solvente e possível condensação de grupos Si-OH – reação favorecida nesta temperatura [11] o que aumenta levemente a rigidez do polímero.

3.5.2 Limpeza do monolito

Após o tratamento térmico, uma janela de detecção é feita queimando-se o revestimento do capilar numa pequena secção. O capilar contendo a FEM pode, então, ser instalado no cartucho. Produtos da fotólise do fotoiniciador e eventuais resíduos de tolueno ainda na coluna são removidos pela limpeza com metanol ou etanol, aplicando-se pressão no equipamento de CE por 10 minutos. O monolito limpo está pronto para utilização e pode ser condicionado com o eletrólito de corrida, aplicando-se pressão ou voltagem.

3.6 Conclusões (método otimizado)

O processo de preparação de uma fase estacionária monolítica (FEM) pode ser sumarizado neste item, seguindo-se as etapas:

A) Pré-tratamento do capilar revestido com poliacrilato (sem necessidade de remoção deste) com fluxo de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ por 20 minutos, seguido de repouso por 10 minutos com esta solução, com subsequente passagem de água deionizada por 5 minutos e passagem de ar, também por 5 minutos (*flush*) para promover a ancoragem de FE.

B) Preparo de uma solução monomérica contendo 1 mL de MPTMS mais 0,3 mL de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (razão molar de 1/4 (MPMTS / H₂O)), totalizando 1,3 mL. Esta solução, heterogênea, é submetida à agitação magnética por 20 minutos à temperatura ambiente e no escuro (frasco embrulhado com papel-alumínio), resultando, após este tempo, numa solução homogênea.

C) Preparo de uma solução porogênica, sob agitação por 5 minutos à temperatura ambiente e no escuro, contendo 8,7 mL de tolueno e 36,0 mg de Irgacure 819 (3,5% (m/m_{MPTMS})).

D) Obtenção do sol pela mistura das soluções monomérica e porogênica (13% e 87%, respectivamente) sob agitação por 30 minutos à temperatura ambiente e no escuro. O sol é, então, deixado em repouso por uma hora, ou até separação da fase aquosa.

Os itens B), C) e D) são executados com auxílio de um agitador magnético de com cinco pontos de agitação.

E) Preenchimento do capilar pré-tratado com o sol através de injeção manual (seringa) ou, preferencialmente, pelo equipamento de CE até um comprimento desejado (controlado visualmente, caso se trate de injeção manual, ou pelo tempo e pressão aplicada pela bomba do equipamento de CE).

F) Polimerização fotoiniciada da coluna por 20 minutos na câmara UV-Vis.

G) Tratamento térmico da coluna monolítica em estufa a 60 °C por 24 horas.

H) Obtenção da janela de detecção e instalação do capilar contendo a FEM no cartucho e no equipamento de CE.

l) *Flush* com solventes orgânicos (metanol e etanol) e condicionamento da FEM com eletrólito condutor.

3.7 Referências

- 1 – Li, W.; Fries, D.P.; Malik, A., *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1044, 23.
- 2 – Ishizuka, N.; Minakuchi, H.; Nakanishi, K.; Soga, N.; Nagayama, H.; Hosoya, K.; Tanaka, N., *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 1275.
- 3 – Sondergeld, L.J.; Bush, M.E.; Bellinger, A.; Bushey, M.M., *J. Chromatogr. A*, **2003**, 1004, 155.
- 4 – Dulay, M.T.; Quirino, J.P.; Bennett, B.D.; Kato, M.; Zare, R.N., *Anal. Chem.*, **2001**, 73, 3921.
- 5 – Kato, M.; Sakai-Kato, K.; Toyo'oka, T.; Dulay, M.T.; Quirino, J.P.; Bennett, B.D.; Zare, R.N., *J. Chromatogr. A*, **2002**, 961, 45.
- 6 – Klein, L.C., *Sol-Gel Technology For Thinfilms, Fibers, Preforms, Electronics, And Specialty Shapes*. Noyes Publications, USA, **1987**.
- 7 – Nakanishi K., *Journal of Porous Materials*, **1997**, 4, 67.
- 8 – Ishizuka, N.; Minakuchi, H.; Nakanishi K.; Soga, N.; Tanaka, N., *J. Chromatogr. A*, **1998**, 797, 133.
- 9 – Ciba Specialty Chemicals Inc., *Coating Effects Segment*, disponível em: <<http://www.cibasc.com/coatingeffects>>, acesso em: 08/2006.
- 10 – Ciba Specialty Chemicals Inc., *Photoinitiators for UV Curing - Key Products Selection Guide*, Ed., **2003**.
- 11 – Amatani, T.; Nakanishi, K.; Hirao, K.; Kodaira, T., *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 2114.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DAS COLUNAS MONOLÍTICAS EM CEC

4.1 Introdução

Uma coluna monolítica preparada após a otimização da confecção foi submetida a alguns testes básicos no equipamento de CE como, por exemplo, a verificação da quantidade de massa de solvente ou eletrólito que se passa do “*vial*” (reservatório usado em CE) de entrada para outro de saída. Colunas que apresentaram bons resultados foram submetidas a corridas eletrocromatográficas de misturas contendo padrões de propilbenzeno, fenantreno e pireno. Os resultados são discutidos a seguir.

4.2 Permeabilidade em capilares de 125 µm D.I.

A estrutura monolítica porosa preparada foi avaliada quanto à sua permeabilidade e resistência mecânica através da passagem de diferentes solventes mediante a aplicação de pressão hidrodinâmica de 940 mbar (*flush*) no equipamento de CE. O experimento consistiu em medir a massa de FM liberada pela coluna após esta ter sido inicialmente preenchida com o solvente em estudo. A massa do *vial* foi medida antes e após cada *flush* de 10 minutos em uma balança analítica. A Tabela 4.1 mostra os resultados da passagem de massa usando, como FM, metanol, etanol ou solução de eletrólito (acetato de amônio 50 mmol L⁻¹ / água / acetonitrila – (1/4/6)), por um capilar de 36 cm de comprimento total e 125 µm I.D. contendo 9 cm de FEM. A FEM foi obtida seguindo-se o item 3.6 (Capítulo 3).

Estes resultados, apresentados na Figura 4.1, forneceram as taxas de fluxo, que são os valores dos coeficientes angulares das regressões lineares obtidas pelo método dos mínimos quadrados para cada fase móvel, independentemente.

Tabela 4.1 – Passagem de massa em função do tempo para metanol, etanol e solução de eletrólito como FM através de monolito de 9 cm em capilar de 36 cm de comprimento e 125 µm D.I.:

Tempo (min)	Metanol (mg)	Etanol (mg)	Eletrólito (mg)
10	39.1	15.2	26.7
20	78.0	30.0	53.4
30	117	45.3	81.4
Taxa de fluxo (mg/min)	3.89	1.51	2.71
r*	0.9999	0.9999	0.9999

*Coeficiente de correlação.

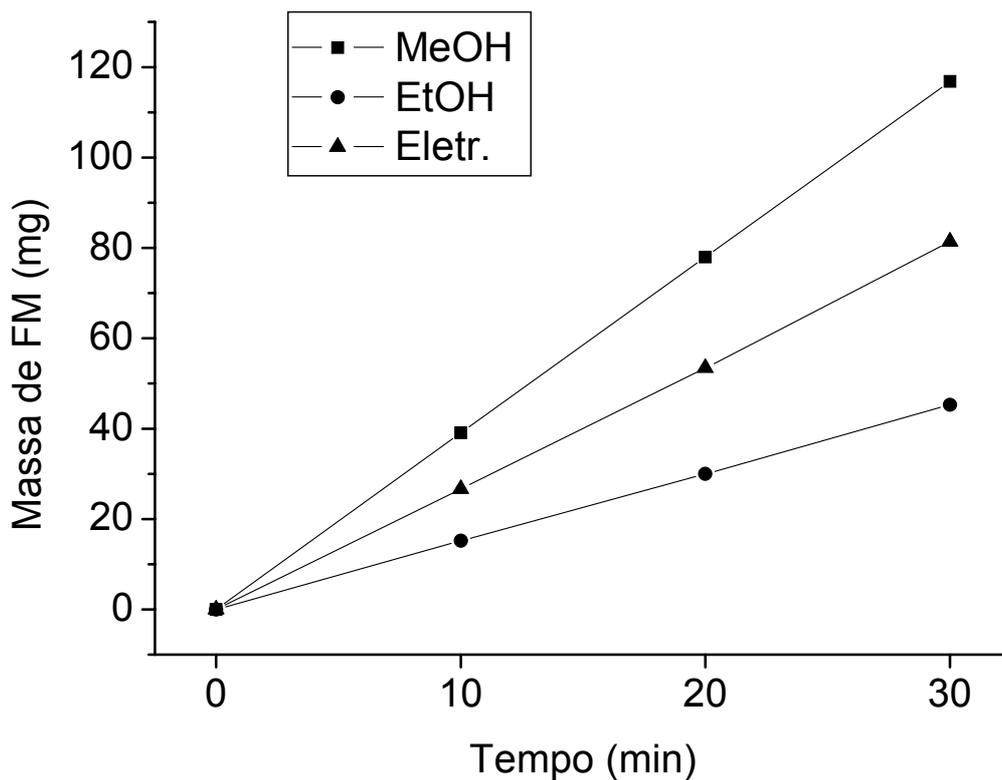


Figura 4.1. Passagem de massa de metanol, etanol e solução de eletrólito como FM através da FEM em função do tempo, através de flush.

O teste realizado pôde ser considerado satisfatório, pois os coeficientes de correlação próximos da unidade são indícios relevantes da ausência de alteração na estrutura monolítica. Além disso, não se observou deslocamento ou fragmentação da FEM ao longo do capilar.

Deve ser lembrado que este teste foi realizado em um capilar de 125 μm D.I. com uma FEM de 9 cm preparada com 87% de porogênio. Colunas com 16 cm, 8 cm e 4 cm preparadas com 85% de porogênio também foram testadas. Embora a porosidade das FEM não tenha sido medida por técnicas de porosimetria, neste caso a permeabilidade destas três últimas colunas é necessariamente menor, já que a porcentagem de porogênio é menor. Isso pode ser notado, tendo em vista que uma coluna de 16 cm, preparada com 85% de porogênio, se apresentou impermeável sob as mesmas condições de teste (solventes, pressão, diâmetro do capilar) usadas para a primeira coluna. Uma coluna com 8 cm apresentou uma permeabilidade tímida, mas ainda sendo possível o seu uso em CEC sem a utilização de pressurização com nitrogênio. Com 5 cm de FEM preparada com 85% de porogênio foi possível a transferência de massa em um capilar de 125 μm D.I., como mostra a Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Passagem de massa de metanol e acetonitrila em capilar de 40 cm de comprimento total contendo FEM de 5 cm com 10 e 20 minutos de flush:

Tempo (min)	Metanol (mg)	Acetonitrila (mg)
10	23,1	35,2
20	46,5	70,5
Taxa de fluxo (mg/min)	2,33	3,53

4.3 Permeabilidade em capilares de 70 μm D.I.

Capilares de 70 μm D.I. também foram testados mediante aplicação de pressão hidrodinâmica com os mesmos solventes. Entretanto, apenas uma coluna apresentou permeabilidade em um único dia de testes. Esta, com 5 cm de FEM preparada com 85% de porogênio, foi a única a permitir a passagem de massa de FM, mas não ofereceu os mesmos resultados após a primeira batelada de testes.

Mesmo uma FEM de 5 cm de comprimento preparada com 90% de porogênio não obteve êxito nos testes de permeabilidade.

Pode-se perceber, desta forma, que existe uma dependência entre a passagem de massa de FM e a porosidade (estimada pela permeabilidade), o comprimento da FEM, o diâmetro interno do capilar utilizado e ainda o tipo de FM empregada. Embora capilares com diâmetro reduzido ofereçam melhores eficiências [1], não foi possível a utilização destes na análise de padrões por CEC.

4.4 Corridas em CEC

Cada coluna aplicada na análise das misturas de padrões foi devidamente lavada com metanol e condicionada com o eletrólito de corrida. Para cada novo eletrólito estudado, foi feito um novo condicionamento de, no mínimo, 10 minutos de *flush* e 20 minutos de aplicação de voltagem (15 ou 20 kV). A composição da FM foi baseada no trabalho de Dulay [2].

4.4.1 CEC com FEM de 8 cm e 85% de porogênio

A coluna monolítica preparada com 85% de porogênio e 8 cm de comprimento num capilar de 125 μm D.I. por 36 cm de comprimento total (27,5 cm até a janela de detecção), foi testada mediante injeção de mistura-padrão contendo propilbenzeno, fenantreno e pireno. Dois eletrocromatogramas, com condições de análise variadas em relação aos padrões, são mostrados nas Figuras 4.2 e 4.3. As principais diferenças são que, no primeiro caso, os padrões foram diluídos em metanol e estão em maior quantidade no capilar (2,5 mmol L^{-1} de cada padrão com injeção de 40 mbar por 15 s) em relação ao segundo caso, em que os padrões foram diluídos no próprio eletrólito e estão em menor quantidade (1,0 mmol L^{-1} com injeção de 20 mbar por 10 s).

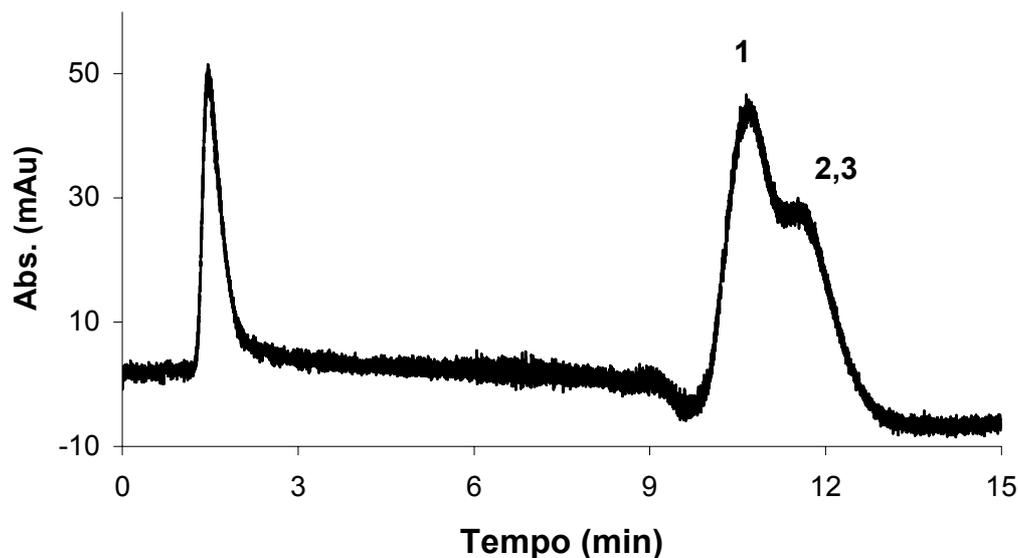


Figura 4.2. Eletrocromatograma de propilbenzeno, fenantreno e pireno diluídos em metanol. Fase móvel: 50 mmol L⁻¹ tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:3:6) (v/v/v); voltagem aplicada: 15 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 40 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Padrões: 1: propilbenzeno, 2: fenantreno e 3: pireno. O pico em torno de 2 minutos é referente ao metanol.

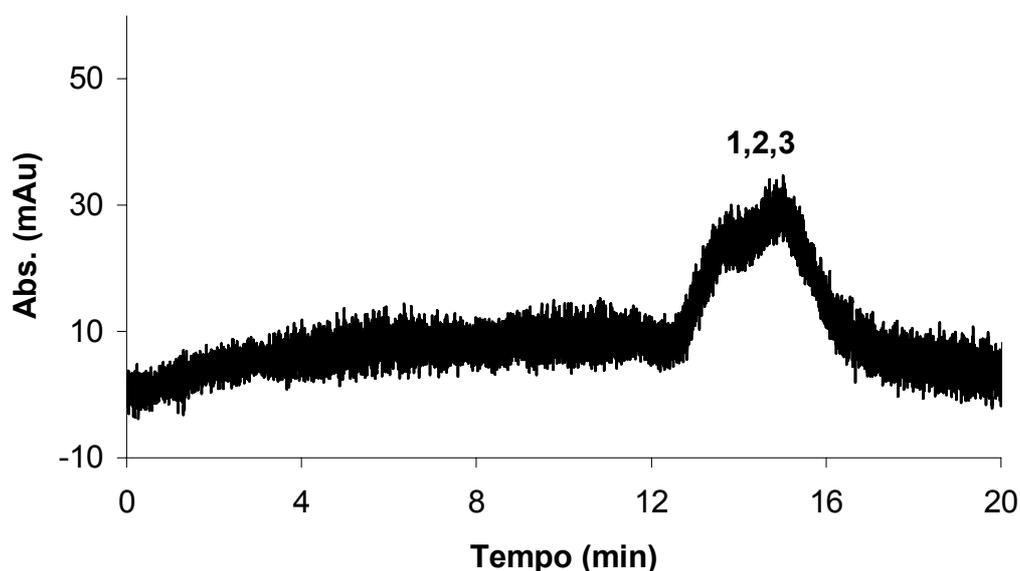


Figura 4.3. Eletrocromatograma de propilbenzeno, fenantreno e pireno diluídos em fase móvel. Fase móvel: 50 mmol L⁻¹ tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:3:6) (v/v/v); voltagem aplicada: 15 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 20 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Padrões: 1: propilbenzeno, 2: fenantreno e 3: pireno.

Ambos eletrocromatogramas mostram uma pequena diferença nos tempos de migração entre propilbenzeno, fenantreno e pireno. Por análise individual dos três compostos, foi possível perceber este fato. Porém, as bandas possuem grande espessura e não há uma separação por linha-base.

Apesar do pico do metanol ter sido eliminado (1º pico no eletrocromatograma da Figura 4.2), o ruído é maior e a separação não ocorreu, como se esperava no segundo caso. Para tentar diminuir o ruído na linha-base foi feito um teste utilizando-se como eletrólito uma mistura de acetonitrila – tampão Tris-HCl (9:1), mas não houve êxito no teste. O ruído foi maior e não foi possível detectar nenhum padrão (Figura 4.4).

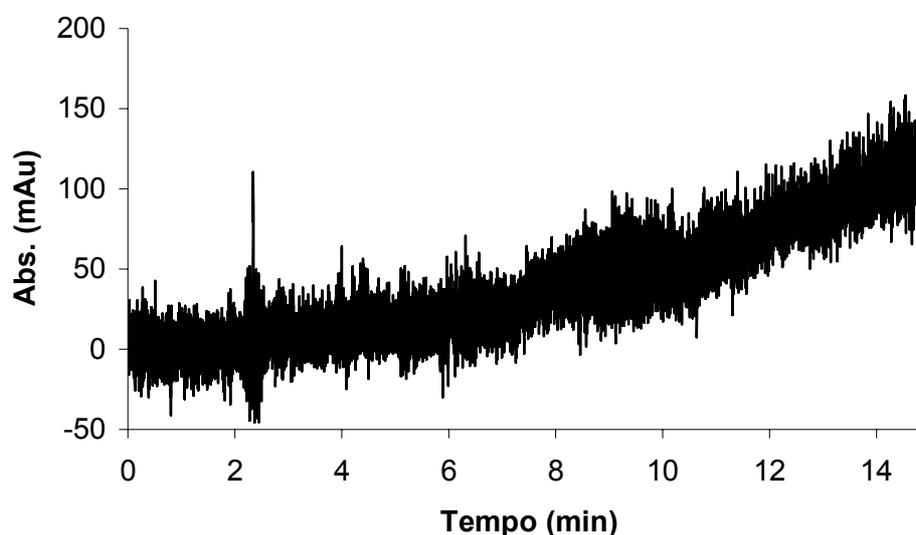


Figura 4.4. Eletrocromatograma de propilbenzeno, fenantreno e pireno diluídos em metanol. Fase móvel: tampão Tris (40 mmol L^{-1}) / HCl (pH 8,05) – acetonitrila (9:1); voltagem aplicada: 15 kV; temperatura: 20 °C; injeção: 20 mbar x 10 s; detecção: 200 nm.

4.4.2 CEC com FEM de 9 cm e 87% de porogênio

A coluna monolítica preparada com 87% de porogênio e 9 cm de comprimento num capilar de 125 μm D.I. por 36 cm de comprimento total (27,5 cm até a janela de detecção) foi testada com a mistura dos três compostos neutros utilizados. As Figuras 4.5 a 4.8 mostram eletrocromatogramas de misturas de padrões de propilbenzeno, fenantreno e pireno, numa tentativa de se ajustar a força

de eluição da FM para uma análise com maior resolução. O eletrólito de corrida foi a mistura acetato de amônio 50 mmol L⁻¹ / água / acetonitrila. As diferentes proporções da FM estão agrupadas na Tabela 4.3:

Tabela 4.3. Razões volumétricas de acetato de amônio 50 mmol L⁻¹ / água / acetonitrila, porcentagens de acetonitrila, concentrações de tampão e correntes médias das corridas A-D.

Corrida	Tampão/água/ACN (v:v:v)	% ACN	Conc. tampão (mmol L ⁻¹)*	Corrente média (μA)**
A	1:4:7	58,3	4,2	22,0
B	1:4:5	50,0	5	28,8
C	2:3:4	44,4	11	71,6
D	1:2:2	40,0	10	65,8

*Concentração “aparente” de acetato de amônio (estoque: 50 mmol L⁻¹) na fase móvel (cálculo incluindo o solvente orgânico).

**Média obtida dos dados do monitoramento da corrente elétrica durante as corridas.

Com as razões tampão / água / acetonitrila (ACN) dadas na Tabela 4.3, pode-se calcular tanto a porcentagem de ACN quanto a concentração aparente de acetato de amônio. É possível notar que o valor da corrente média, apesar de ser uma estimativa grosseira, acompanha a concentração do tampão presente na FM. Além disto, não foram observadas quedas ou falhas na corrente, que permaneceu estável durante as análises. Isto é um indicativo de bom funcionamento do sistema eletroforético.

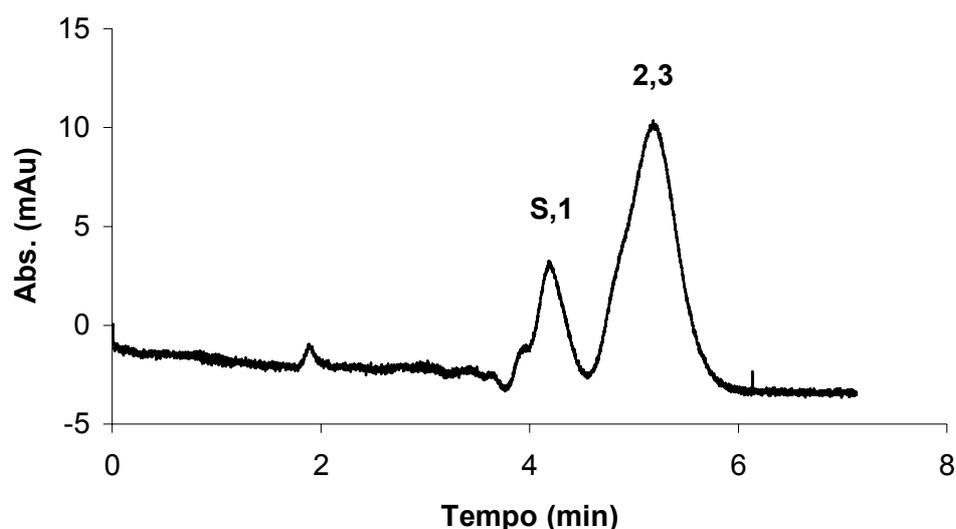


Figura 4.5. Eletrocromatograma “A” de propilbenzeno (1) (1 mmol L^{-1}), fenantreno (2) (2 mmol L^{-1}), e pireno (3) (1 mmol L^{-1}). Fase móvel: 50 mmol L^{-1} tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:4:7) (v/v/v); voltagem aplicada: 20 kV; temperatura: $20 \text{ }^\circ\text{C}$; injeção: 40 mbar x 15 s; detecção: 200 nm. Pico do solvente: S.

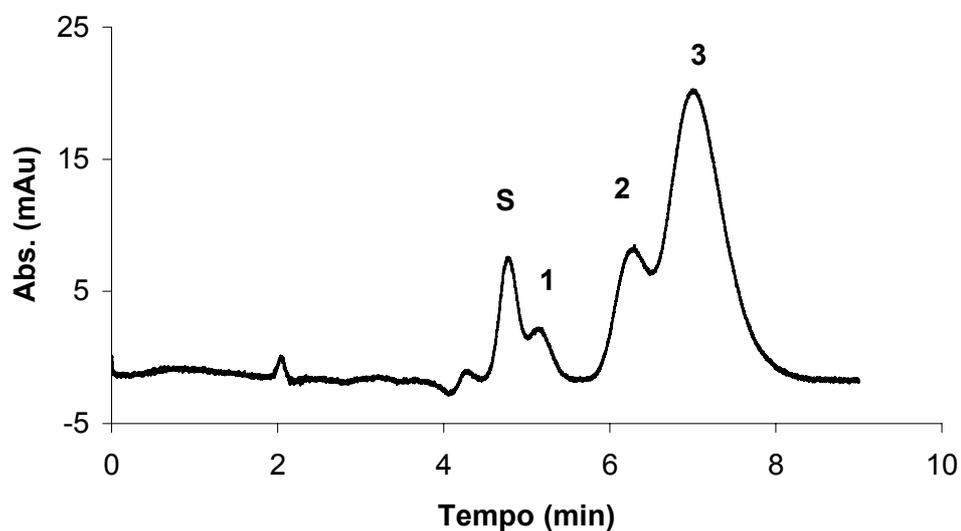


Figura 4.6. Eletrocromatograma “B” de propilbenzeno (1) (1 mmol L^{-1}), fenantreno (2) (2 mmol L^{-1}), e pireno (3) (1 mmol L^{-1}). Fase móvel: 50 mmol L^{-1} tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:4:5); voltagem aplicada: 20 kV; temperatura: $20 \text{ }^\circ\text{C}$; injeção: 40 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Pico do solvente: S.

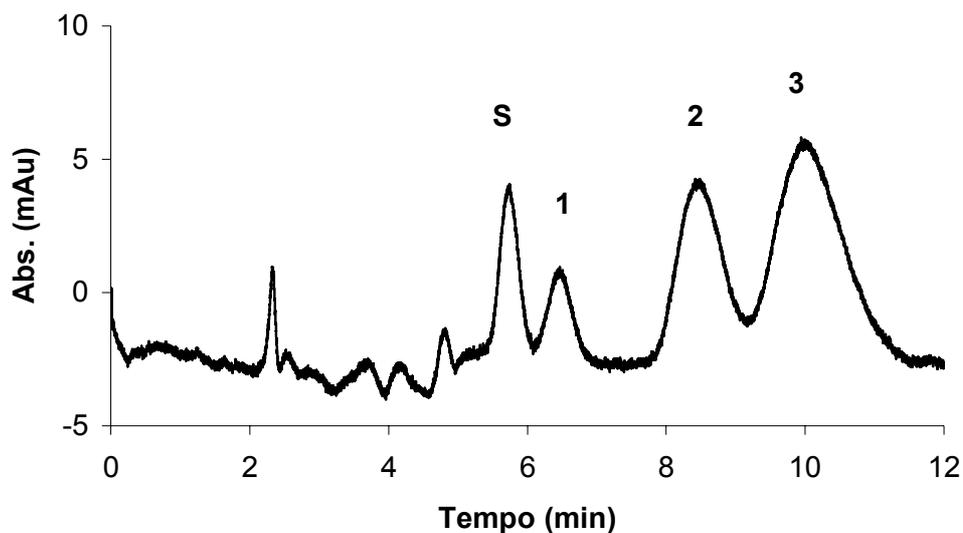


Figura 4.7. Eletrocromatograma "C" de propilbenzeno (1), fenantreno (2) e pireno (3) (1 mmol L^{-1} cada padrão). Fase móvel: 50 mmol L^{-1} tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (2:3:4); voltagem aplicada: 20 kV; temperatura: $20 \text{ }^\circ\text{C}$; injeção: 40 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Pico do solvente: S.

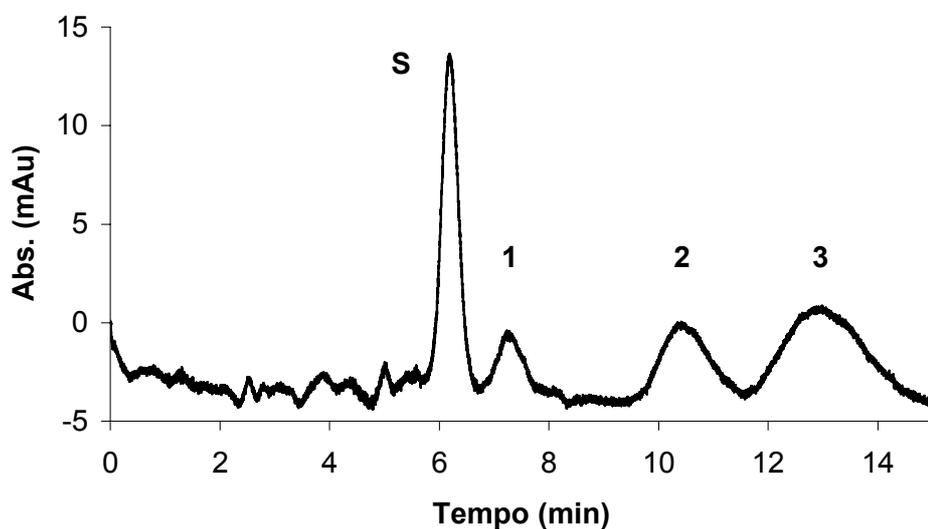


Figura 4.8. Eletrocromatograma "D" de propilbenzeno (1), fenantreno (2) e pireno (3) (1 mmol L^{-1} cada padrão). Fase móvel: 50 mmol L^{-1} tampão acetato de amônio - água - acetonitrila (1:2:2); voltagem aplicada: 20 kV; temperatura: $20 \text{ }^\circ\text{C}$; injeção: 40 mbar x 10 s; detecção: 200 nm. Pico do solvente: S.

É possível observar nas Figuras 4.5 a 4.8 que a separação aumenta quando se diminui a força de eluição da fase móvel (diminuição da quantidade de acetonitrila no modo de *fase reversa*). A acetonitrila, em grandes porcentagens, arrasta os solutos apolares juntamente para o detector, sem permitir que haja tempo suficiente para que a FEM atue com suas características de retenção. No entanto, quando a porcentagem de acetonitrila diminui, o tempo de análise aumenta, e a possibilidade de alargamento de banda é maior. Assim, a razão de acetonitrila na FM não pôde ser menor do que a utilizada para a corrida D, ou seja, 40 %.

Uma explicação sobre as bandas dos analitos estarem muito alargadas pode ser dada em função do diâmetro interno do capilar (125 μm). Segundo Baker [1], o diâmetro de um capilar influencia na variação de temperatura entre o centro e a parede do tubo, conforme a equação:

$$\Delta T = 0,0598 \left(\frac{Q}{k} \right) r^2 \quad (4.1)$$

onde Q é a densidade de potência, k é a condutividade térmica e r é o raio do capilar. De acordo com a expressão acima, a utilização de um capilar com diâmetro interno acima de 75 μm (máximo valor recomendado) pode fornecer altas variações de temperatura da FM. Dessa forma, moléculas de soluto que estão ao centro do capilar, na região mais quente, tendem a se dispersar mais, ao contrário das moléculas em regiões frias, próxima às paredes internas, que ficam mais agrupadas. O resultado disso é um aumento do tamanho da zona de migração, que é percebido pelos detectores numa análise.

4.4.2.1 Espectros de absorção no UV dos padrões

A passagem dos três padrões pela janela de detecção foi confirmada pelo espectro de absorção no UV-vis de cada um. São mostrados nas Figuras 4.9 a 4.14 os espectros de propilbenzeno, fenantreno e pireno, obtidos no próprio equipamento de CE e no espectrofotômetro de duplo feixe UV-1601PC. Os espectros do CE foram copiados da própria tela do *software Chemstation* e colados em editor de imagem comum (*MS Paint - Windows*).

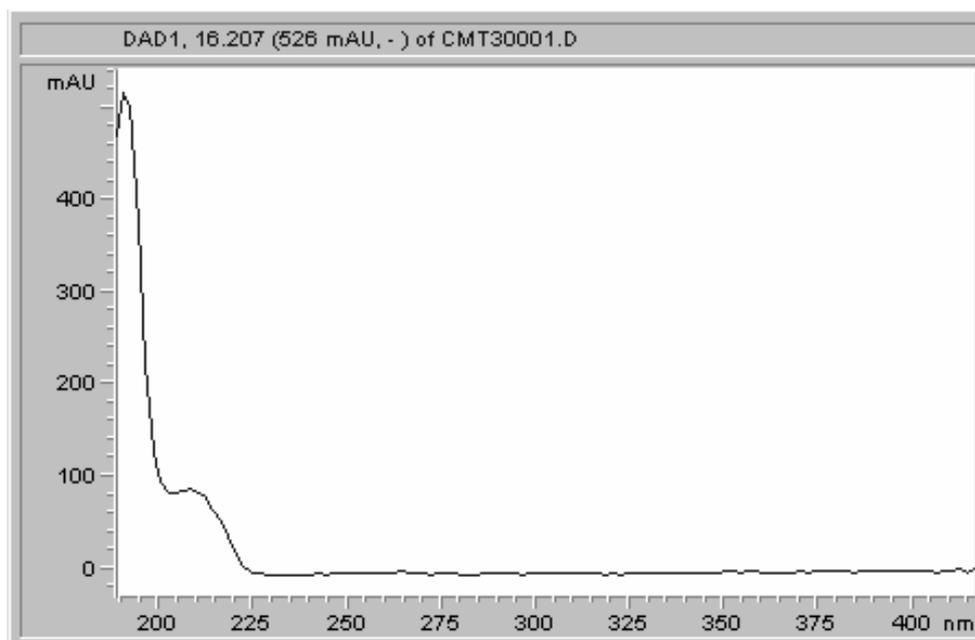


Figura 4.9. Espectro de absorção do propilbenzeno no CE.

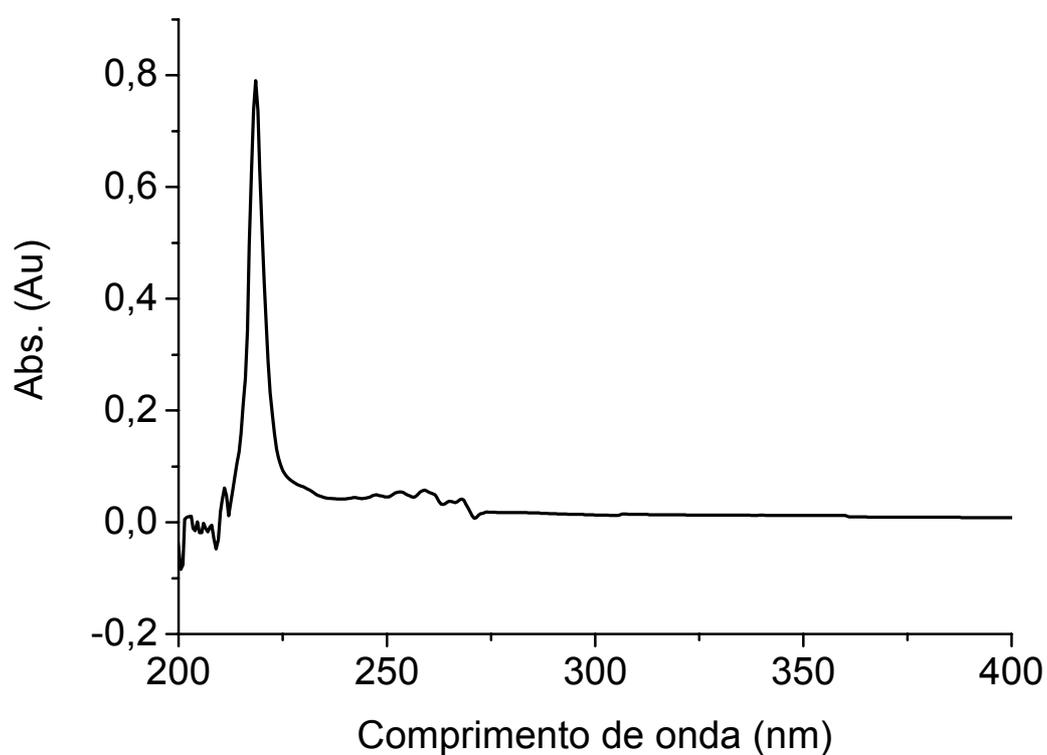


Figura 4.10. Espectro de absorção do propilbenzeno no espectrofotômetro.

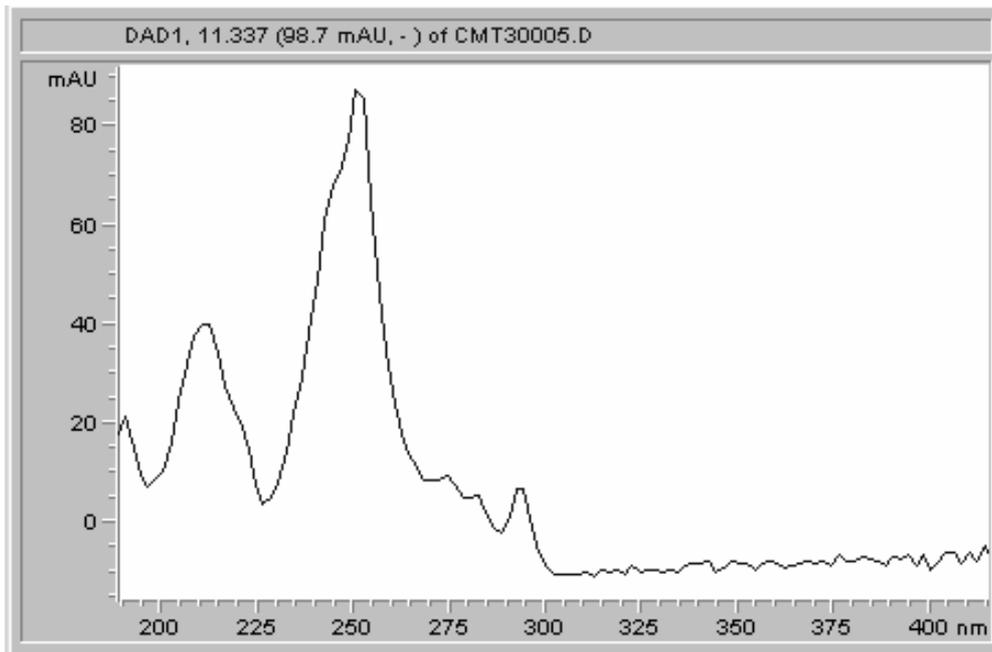


Figura 4.11. Espectro de absorção do fenantreno no CE.

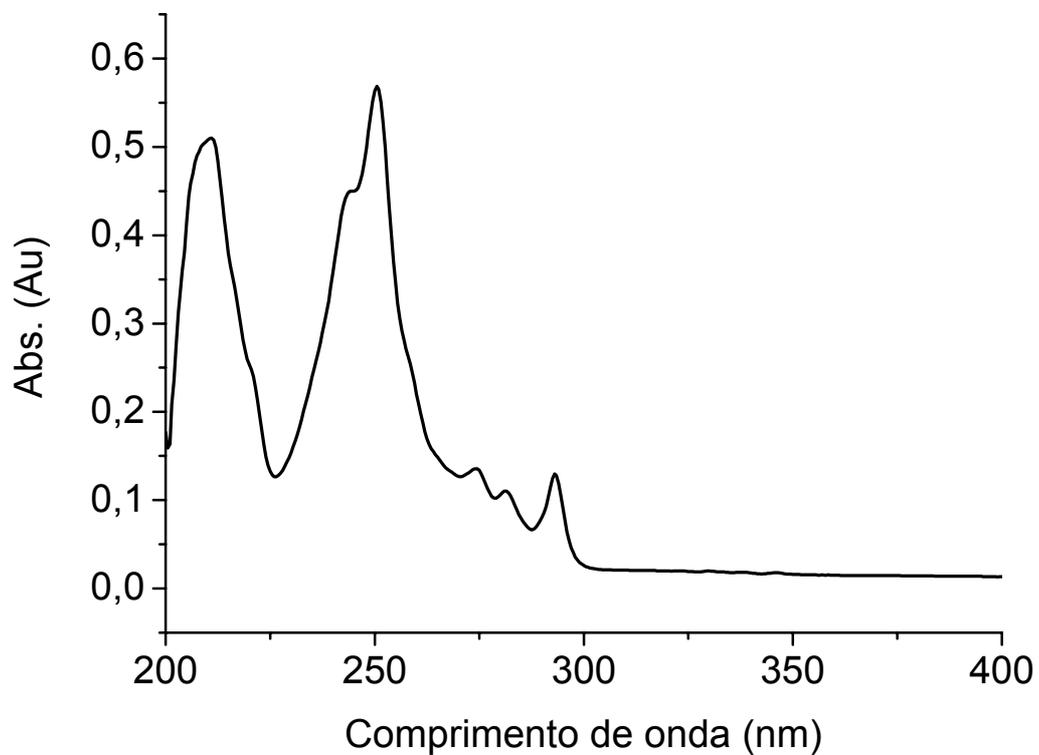


Figura 4.12. Espectro de absorção do fenantreno no espectrofotômetro.

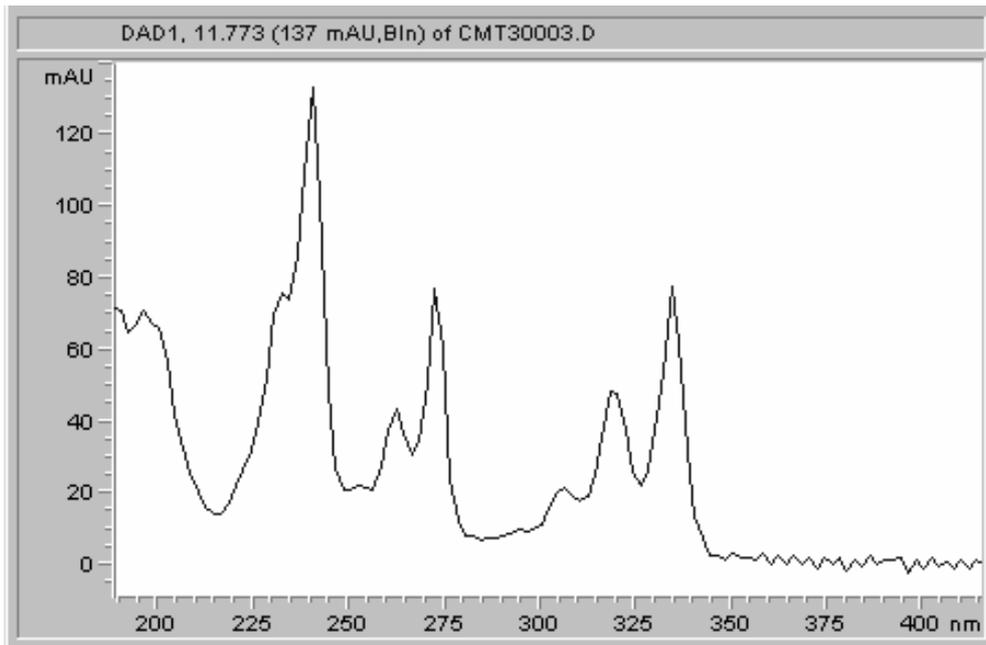


Figura 4.13. Espectro de absorção do pireno no CE.

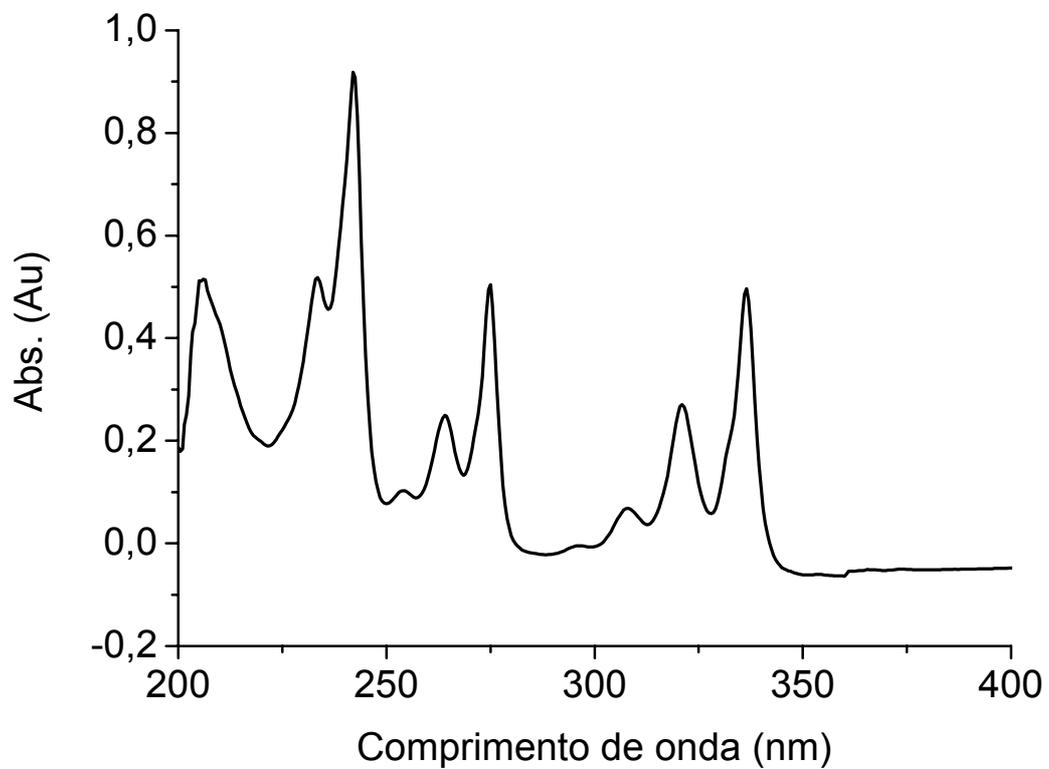


Figura 4.14. Espectro de absorção do pireno no espectrofotômetro.

Algumas diferenças são percebidas entre os espectros obtidos das duas fontes (CE e espectrofotômetro), principalmente na região de 200 nm, em função do ambiente em que a substância se encontra. No equipamento de CE, durante a corrida, o composto já está separado do solvente (metanol) e se encontra com certa porção de eletrólito (FM). Já no espectrofotômetro, o composto se encontra presente em metanol (solvente utilizado para as medições). Contudo, pode-se ver, claramente que os compostos detectados no CE são os padrões injetados.

4.5 Análise por Microscopia Ótica

As Figuras 4.15 e 4.16 mostram as fotografias obtidas no microscópio ótico (DMR - LEICA) para averiguação de material no interior do capilar.

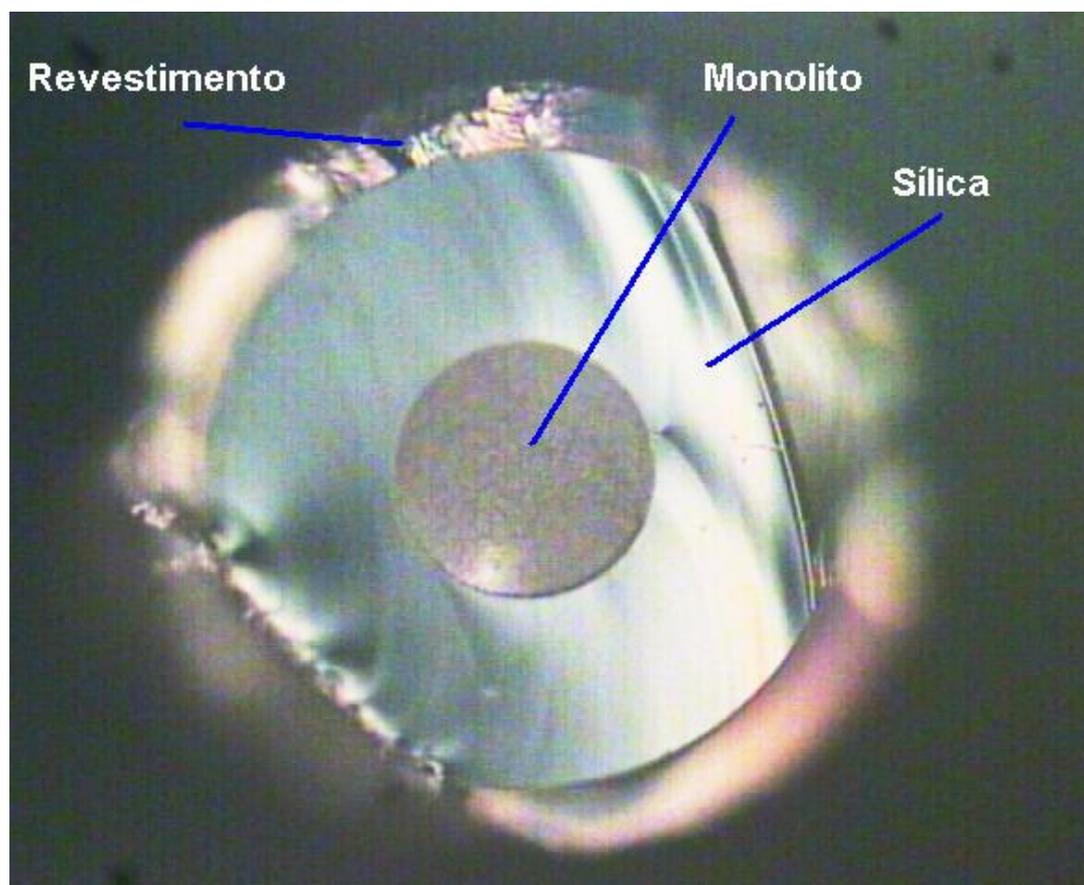


Figura 4.15. Fotografia digital com microscópio ótico de um capilar de 125 μm D.I. revestido de poliacrilato contendo monólito polimerizado por fotoiniciação em seu interior.



Figura 4.16. Ampliação da imagem da Figura 4.15 pela troca de objetiva.

Este foi um dos primeiros testes feitos na UNESP após a aplicação da técnica de Dulay [2] para o preparo de um monolito polimerizado por fotoiniciação. Pela fotografia ampliada é possível enxergar uma superfície áspera.

4.6 Conclusões

As avaliações realizadas puderam ser consideradas satisfatórias, pois estas indicaram a qualidade da fase estacionária monolítica frente o equipamento de CE. Os testes de permeabilidade indicaram, além de uma porosidade estimada, a robustez da estrutura monolítica, já que não se observou (com auxílio de lupa) deslocamento ou fragmentação da FEM (cuja preparação foi otimizada) ao longo do capilar.

Foi possível perceber que existem dependências significativas entre transferência de massa de FM e: a) porosidade (estimada pela permeabilidade), b) o comprimento da FEM, c) o diâmetro interno do capilar utilizado e d) o tipo de

solvente empregado. Embora capilares com diâmetro reduzido sejam recomendados, somente foi possível, para análises de padrões por CEC, a utilização de capilares de 125 µm D.I. Esta pode ser uma explicação sobre as tão alargadas bandas dos analitos.

Foi observado que a separação dos compostos neutros aumenta quando se diminui a força da fase móvel (diminuição da quantidade de acetonitrila no modo de *fase reversa*). A razão ideal de acetonitrila na FM foi de 40 %.

Com a confirmação dos espectros de propilbenzeno, fenantreno e pireno, ficou claro que os compostos migraram pela coluna monolítica. Todos estes resultados reforçam a evidência da presença de uma FEM polimerizada por fotoiniciação *in situ*, sem a qual não seria possível a separação destes compostos neutros em sistemas similares de eletroforese.

4.7 Referências

- 1 – Baker, D.R., *Capillary Electrophoresis*, **1995**, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 2 – Dulay, M.T.; Quirino, J.P.; Bennett, B.D.; Kato, M.; Zare, R.N., *Anal. Chem.*, **2001**, 73, 3921.

CAPÍTULO 5

CONSTRUÇÃO DE UMA CÂMARA DE LUZ UV-VISÍVEL

5.1 Introdução

Desde que foi percebida uma maior eficiência em alguns processos e reações químicas, quando estes são provocados por radiação eletromagnética, aumentou-se consideravelmente o número de equipamentos de emissão de ondas deste tipo vendidos em todo o mundo. Estes aparelhos incluem desde os reatores fotoquímicos, capelas germicidas até os fornos de microondas, que vêm sendo utilizados nos laboratórios. Esta eficiência pode ser explicada pelo fato de que determinados sistemas absorvem energia eletromagnética de forma mais efetiva do que, por exemplo, energia térmica.

No entanto, os equipamentos de emissão de ondas eletromagnéticas, como os reatores fotoquímicos (especificamente na região do ultravioleta) disponíveis comercialmente para laboratório apresentam relevantes empecilhos para aquisição devido à escassa disponibilidade local (necessidade de importação), alto custo e eventuais necessidades de adaptação. Dessa forma, a construção de um equipamento alternativo com componentes de fácil acesso torna-se bastante atraente, caso a utilização deste seja indispensável. Como exemplos, Duarte *et al* [1] descreveram a construção e estudos de desempenho de um reator fotoquímico concentrador e luz solar como alternativa para reciclagem de águas residuárias; e Alvarenga *et al* [2] mostram a construção de uma câmara de luz UV para visualização em cromatografia plana. Ambos os trabalhos exibem como uma das principais vantagens o baixo custo.

Com o intuito de se obter um sistema de emissão de luz UV-Vis capaz de promover a polimerização fotoiniciada de fases estacionárias monolíticas principalmente em capilares revestidos com poliacrilato, foi desenvolvido um reator fotoquímico de baixo custo, específico para comportar as colunas estendidas, já que câmaras comerciais deste tipo, além de caras, não possuem as dimensões desejadas.

Como já foi citada no Capítulo 2, esta câmara consiste em uma caixa, feita em madeira MDF contendo seis lâmpadas fluorescentes, sendo quatro negras e duas lâmpadas brancas (90 W de potência total). As lâmpadas são conectadas a três reatores elétricos que, por sua vez, são ligados à rede elétrica com o intermédio de um temporizador digital (Figura 5.1).

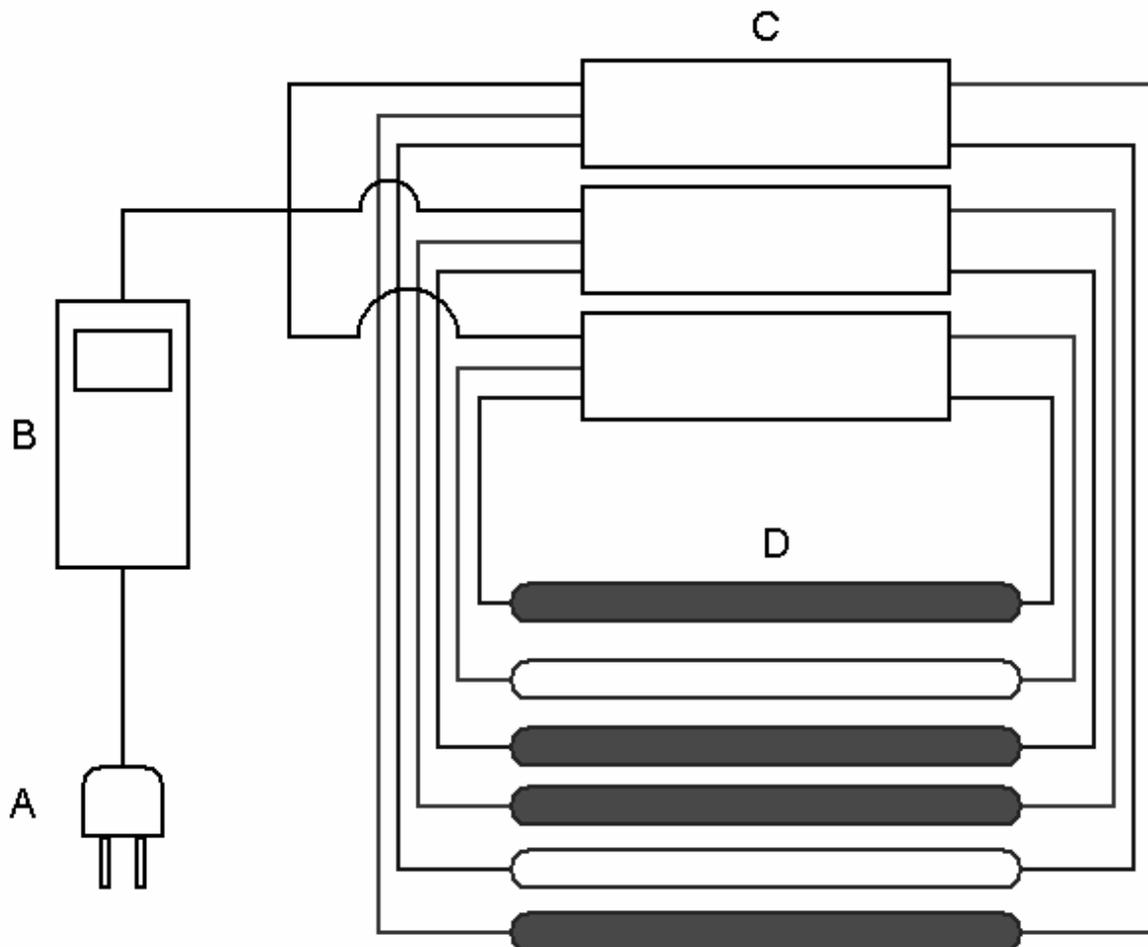


Figura 5.1. Esquema da alimentação das lâmpadas mostrando: A) tomada para conexão à rede elétrica; B) temporizador eletrônico programável para permitir e bloquear a passagem de corrente elétrica; C) reatores elétricos e D) lâmpadas fluorescentes de 15 w de potência cada.

O espectro de emissão cobre uma faixa de comprimentos de onda de 350 a 700 nm, na qual o revestimento de poliacrilato apresenta transparência suficiente para a polimerização de FEM. Para que a energia liberada pelas lâmpadas seja concentrada no interior da caixa e não seja dispersa pela madeira, todas as paredes internas da câmara possuem espelhos planos, os quais favorecem uma distribuição de luz mais homogênea no espaço interno. Além disso, existe um apoio móvel que permite posicionar a amostra em diferentes alturas a partir da fonte de emissão.

5.2 Materiais para a construção

Para a construção da câmara foram adquiridos os seguintes itens: ~0,70 m² de madeira MDF de 15 mm de espessura; 0,25 m² de prancheta MDF de 3 mm de espessura; ~0,45 m² de espelhos de 2 mm de espessura; 4 lâmpadas fluorescentes negras (UV) e 2 lâmpadas fluorescentes brancas de 15 W, F15-T8, (*Starlux*); soquetes (conectores elétricos) e abraçadeiras para as lâmpadas; cabo para alimentação elétrica e tomada; temporizador eletrônico (*Timer digital*) *TS-EB1* (*Masterclear*) com ajuste mínimo de 1 min; 3 reatores para 2 lâmpadas cada; parafusos para madeira, arruelas, porcas, alças, tranca, dobradiças e pés de borracha; cola para madeira (*Brascola*) (100 g), lixas e verniz. Todos os itens necessários foram comprados em comércio local com recursos oriundos da FAPEMIG.

5.3 Montagem da câmara

5.3.1 Considerações sobre segurança

É importante que um equipamento que emita luz com comprimentos de onda na região do ultravioleta ofereça segurança ao operador. Em função disto, pranchas de madeira MDF (*Medium Density Fiberboard*) foram cortadas, respeitando-se cada dimensão calculada, e encaixadas de maneira a não permitir vazamentos de luz para o meio externo. Foram utilizadas pranchas de 15 mm de espessura em função da rigidez e disponibilidade de compra. As peças cortadas foram coladas (com exceção das portas) e parafusadas para aumentar a resistência mecânica da caixa, o que permite que eventuais transportes e manuseios em geral possam ser feitos com segurança. A Figura 5.2 traz uma fotografia que mostra o aspecto externo da câmara construída.



Figura 5.2. Fotografia digital da câmara de luz UV-Vis mostrando aparência externa.

Para o manuseio da amostra, foi feita uma porta frontal, mais leve e, para manutenção e limpeza, foi feita uma porta superior, contendo os reatores e as lâmpadas (Figura 5.3). Isto fornece facilidade e segurança para a utilização da câmara. As portas foram instaladas com dobradiças e trancas.



Figura 5.3. Fotografia digital da câmara mostrando as portas frontal e superior abertas.

5.3.2 Dimensões internas da câmara

5.3.2.1 Largura longitudinal

É possível comportar capilares estendidos com até 50,0 cm de comprimento sem a necessidade de torção. Esta configuração favorece polimerização homogênea ao longo da coluna. Além disso, as lâmpadas de 15 W utilizadas têm aproximadamente 46 cm de comprimento. Portanto, a dimensão foi devidamente calculada levando-se em consideração o tamanho das colunas e das lâmpadas.

5.3.2.2 Largura transversal

A largura transversal de 21,5 cm foi calculada em função do número de lâmpadas utilizadas, bem como dos espaços entre elas ($6 \times (2,5 \text{ cm de diâmetro} + 1 \text{ cm de espaço})$, aproximadamente).

5.3.2.3 Altura

A altura de 16,0 cm possibilita a disposição da amostra em diferentes distâncias a partir da fonte de emissão, além de contribuir para a dispersão de calor gerado pelas lâmpadas após algum tempo em funcionamento.

5.3.3 Espelhos e apoio da amostra

Todas as paredes internas, com exceção da base, foram recobertas com espelhos de 2 mm de espessura com auxílio de cola de madeira. Para o apoio da amostra, foi feita uma prateleira, também espelhada, com uma prancha de MDF de 3 mm de espessura. Esta prateleira foi feita com a intenção de permitir apoiar a amostra a uma altura ajustável em relação às lâmpadas. A Figura 5.4 mostra o desenho com dimensões e características internas e a Figure 5.5 mostra a câmara fechada e dimensões externas.

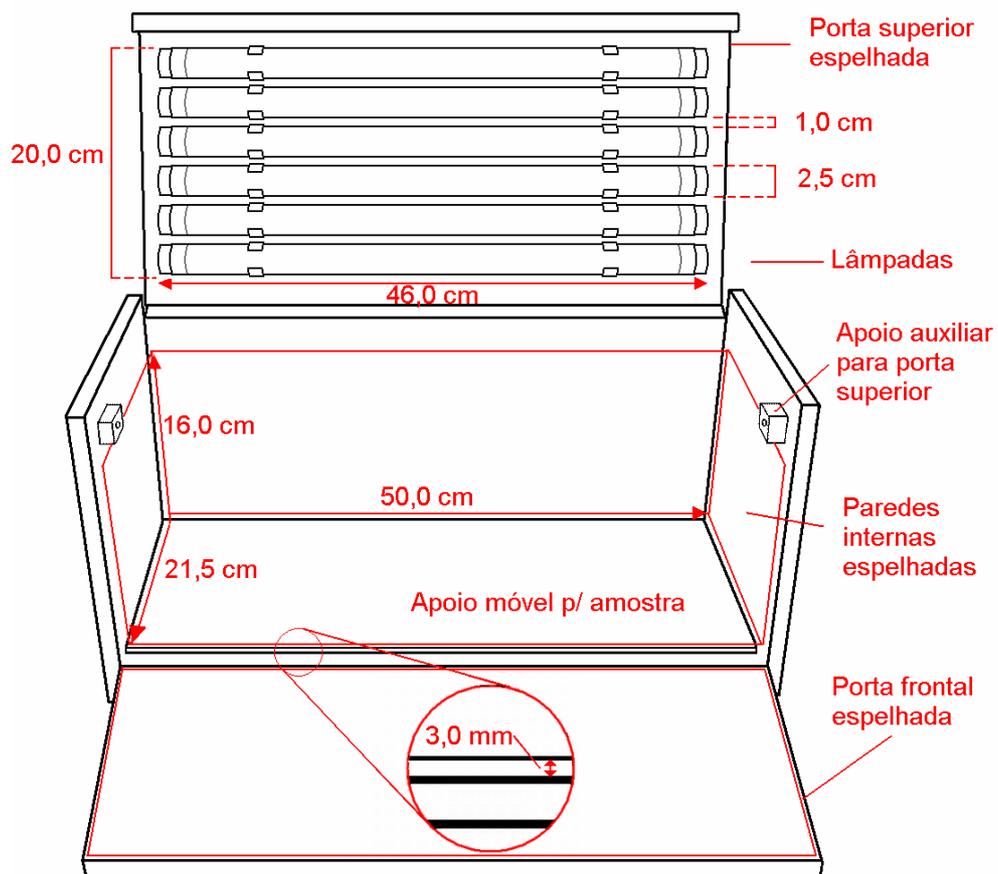


Figura 5.4. Desenho da câmara com as portas frontal e superior abertas mostrando o espaço interno disponível e dimensões das lâmpadas.

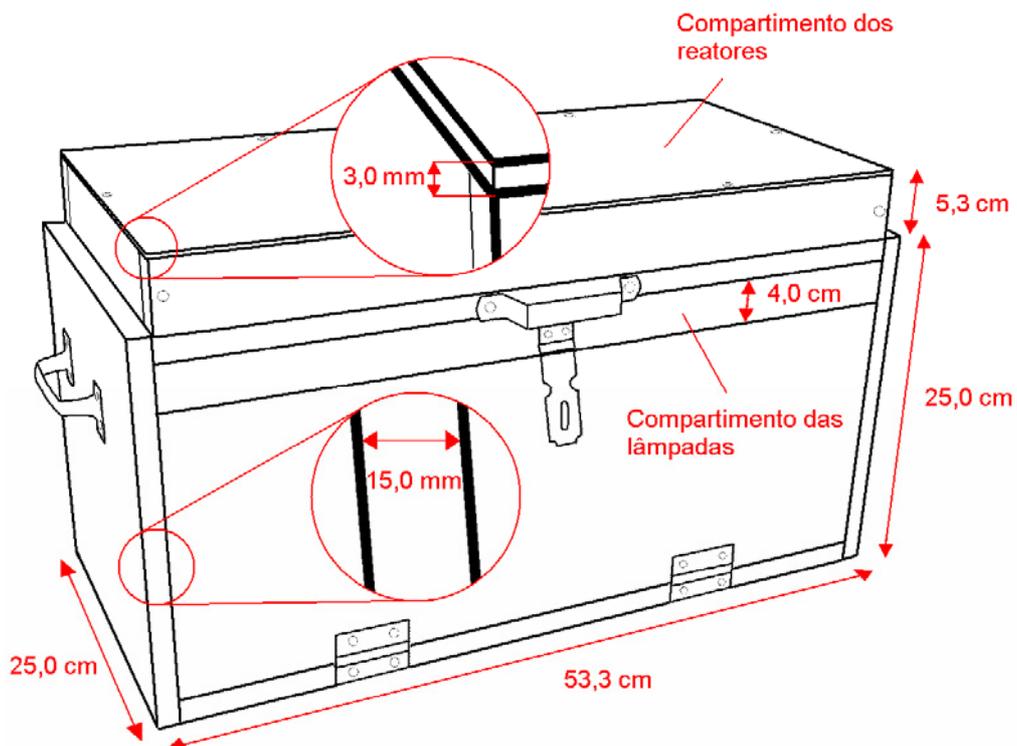


Figura 5.5. Desenho da câmara fechada mostrando as dimensões externas.

5.3.4 Reatores e circuito elétrico

Para o funcionamento das lâmpadas fluorescentes, são necessários reatores elétricos específicos para cada faixa de potência. A câmara foi montada com três reatores para cada duas lâmpadas. Como as lâmpadas foram instaladas no teto, a melhor posição para a instalação dos reatores foi acima da porta superior, permitindo maior facilidade na instalação elétrica. Desta maneira, as lâmpadas ficaram separadas dos reatores pelo espelho e pela tampa de madeira de 15 mm. Para evitar aquecimento das lâmpadas sobre os reatores ou vice-versa, o compartimento destes últimos foi perfurado (Figura 5.6).

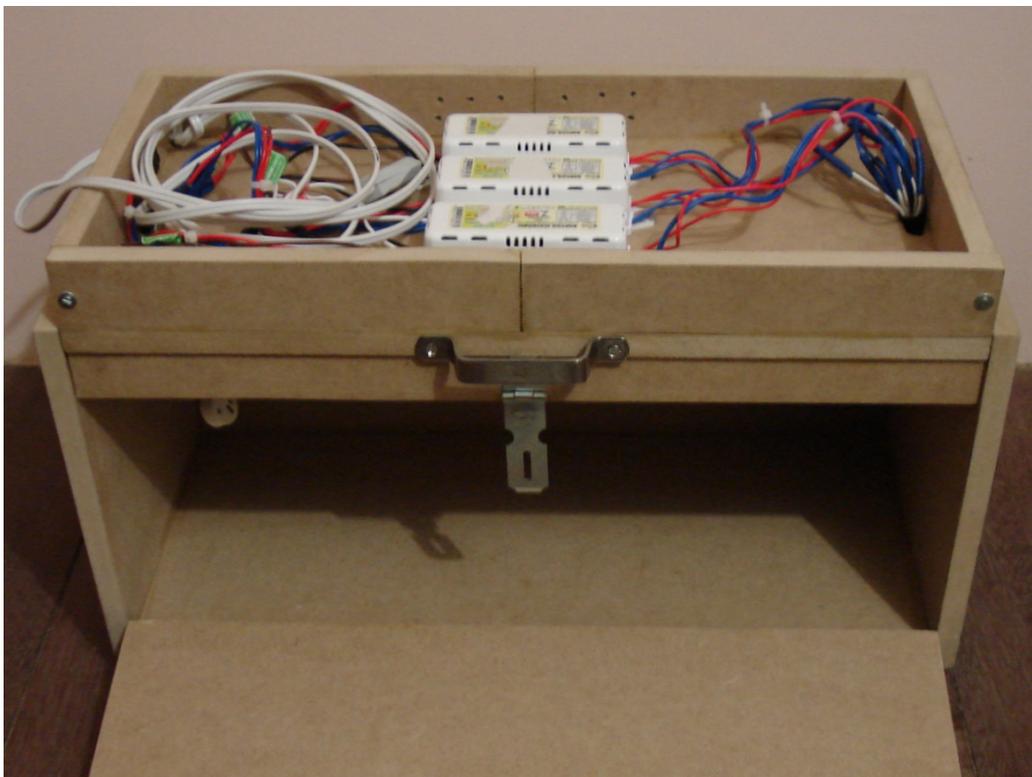


Figura 5.6. Fotografia digital da câmara em fase de construção, mostrando os reatores elétricos (caixas brancas), fiação e perfuração na parte posterior do compartimento.

A Figura 5.7 mostra esquema do circuito elétrico implementado para a montagem da câmara. O circuito é composto por um timer eletrônico com a função de controlar a chave liga-desliga associado a três reatores elétricos em paralelo com suporte para duas lâmpadas de 15 W cada. Os reatores utilizados podem operar com voltagem ajustada para 110 ou 220 V. No presente trabalho optou-se por 110 V.

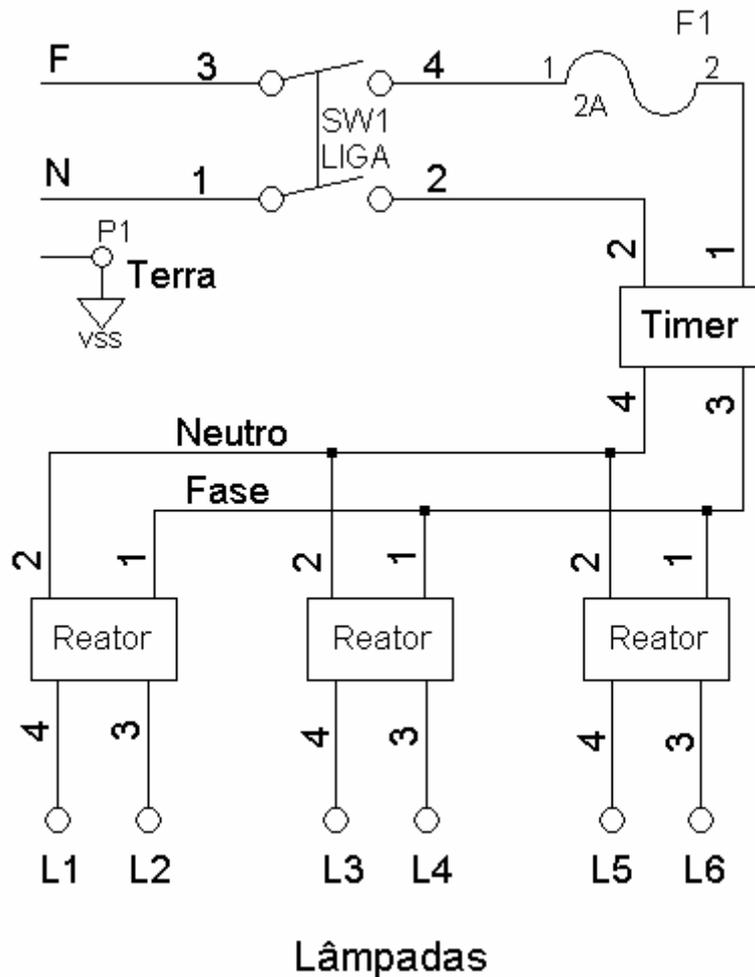


Figura 5.7 - Esquema do circuito de alimentação utilizado na montagem da câmara.

5.4 Resultados e discussões

5.4.1 Espectros de emissão das lâmpadas fluorescentes

Lâmpadas fluorescentes são tubos de vidro revestidos internamente com um material sólido que absorve a radiação dos átomos de mercúrio excitados, no estado gasoso a baixa pressão. Este revestimento, quando absorve os fótons provindos do mercúrio, emite uma radiação própria de comprimentos de onda na faixa do ultravioleta em função da mistura de substâncias que compõe o material. A câmara configurada para o presente trabalho consistiu de quatro lâmpadas negras e duas brancas (Figura 5.8), com faixa espectral de emissão abrangendo o espectro visível e parte do UV.

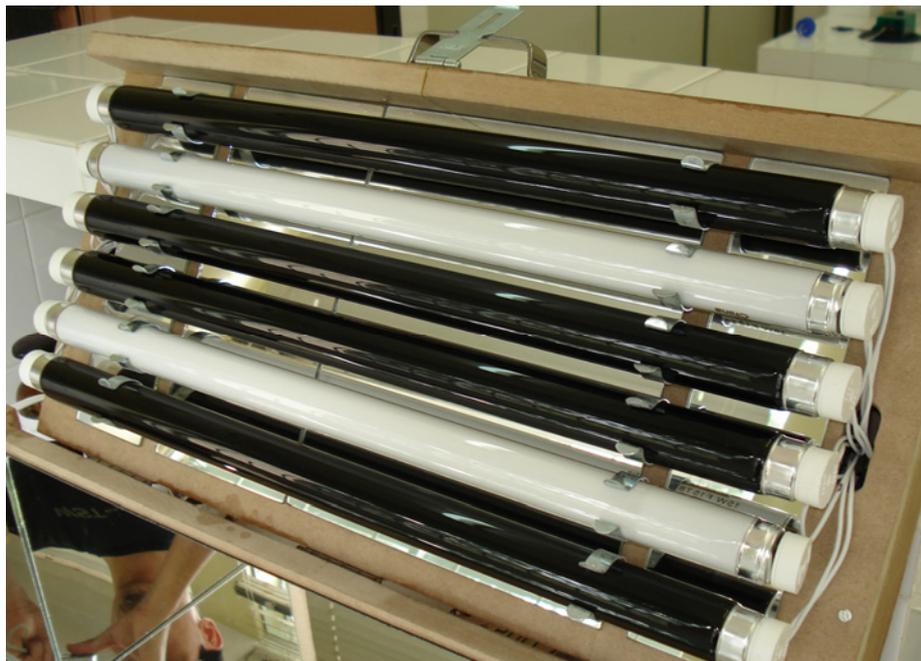


Figura 5.8. Fotografia digital mostrando a disposição das lâmpadas.

A Figura 5.9 apresenta os espectros de emissão de uma lâmpada negra, uma branca e as duas ligadas simultaneamente, obtidos com auxílio de um cabo de fibra ótica no espectrofotômetro USB 2000, (*Ocean Optics*). É possível notar que existe radiação na faixa de comprimentos de onda de 350 até 700 nm. Cabe lembrar que a faixa de emissão pode ser escolhida em função da obtenção de lâmpadas com emissão compatíveis com a faixa de comprimento de onda de interesse. A escolha foi feita em função do espectro de absorção do Irgaure 819 (veja Figura 3.6 no Capítulo 3). Como este apresenta uma banda que alcança os 450 nm (região do visível), a emissão das lâmpadas brancas cobre esta cauda. Alguns testes foram feitos com sóis em frascos de 1 mL utilizando-se apenas um tipo de lâmpada. As lâmpadas negras apresentaram uma eficiência nitidamente maior do que as lâmpadas brancas na polimerização. Somente após uma hora, o sol começou a perder viscosidade (obtenção de gel) com as duas lâmpadas brancas. Isto é explicado, pois a potência luminosa da lâmpada branca é distribuída em uma faixa de comprimentos de onda maior (400 a 700 nm) do que a de uma lâmpada negra (350 a 400 nm). Com o uso somente das lâmpadas negras foi possível a obtenção de gel logo em torno de 20 minutos.

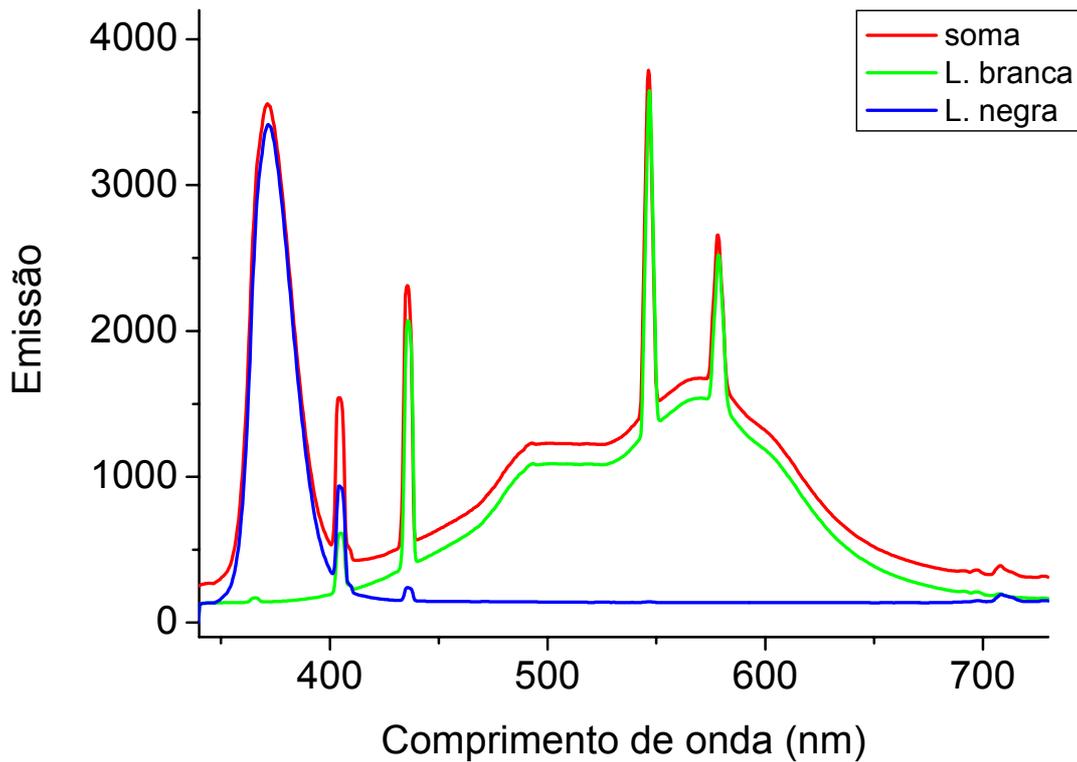


Figura 5.9 - Espectros de emissão de uma lâmpada negra, de uma lâmpada branca e das duas lâmpadas ligadas juntas (soma) no interior da câmara.

Para fins de ilustração, o espectro de emissão de uma lâmpada negra mais o espectro de transmitância do revestimento de poliacrilato (300 μm de espessura – caminho ótico) e mais o espectro e absorção do Irgacure 819 foram plotados em apenas um gráfico na Figura 5.10. Embora não seja possível retirar informações quantitativas destes espectros reunidos, uma comparação qualitativa pode ser feita sem problemas, já que as três medidas apresentam pelo menos o eixo-x em comum. A curva de transmitância do poliacrilato pode ser entendida como uma “janela” embaixo da qual a luz (espectro de emissão) está “livre” para incidir no fotoiniciador (espectro de absorção).

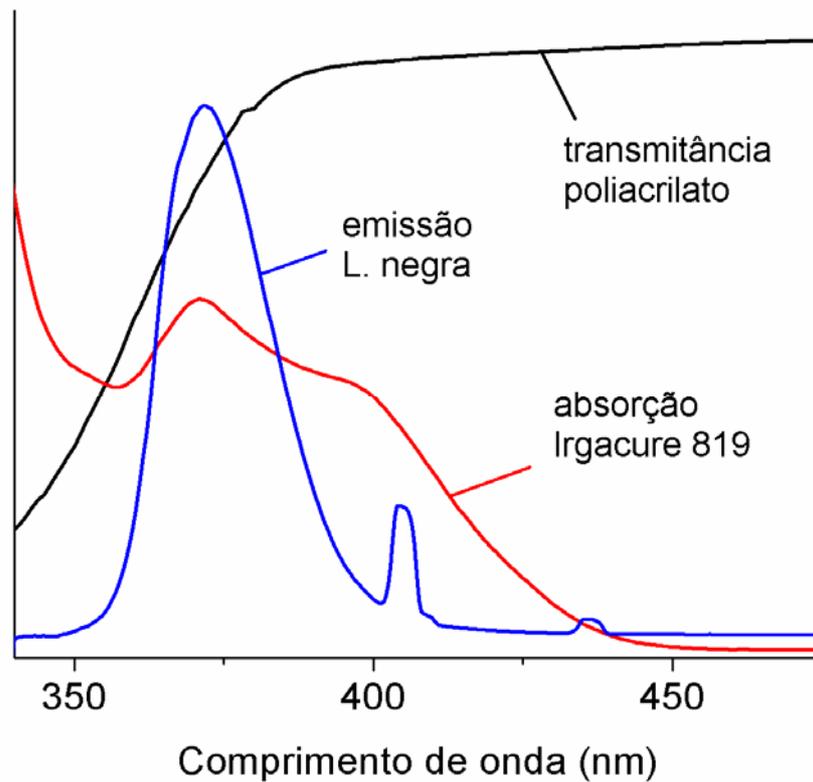


Figura 5.10 - Espectros de emissão de uma lâmpada negra, de transmitância do poliacrilato e de absorção do Irgacure 819. A transmitância se aproxima de 100 % acima de 400 nm. Os eixos-y dos espectros de emissão e de absorção foram convenientemente adaptados para se ajustarem ao espectro de transmitância.

5.4.2 Tempo para polimerização

Amostras de solução fotopolimerizável foram irradiadas na câmara em capilares de 360 μm de D.E., 125 μm de D.I. e em reservatórios de 1 mL. Para a polimerização das colunas, o tempo necessário é em torno de 20 minutos.

5.4.3 Aquecimento do ambiente interno

É importante lembrar que mesmo depois de 30 minutos o aquecimento na amostra é mínimo, quando comparado com câmaras de lâmpadas de diferentes naturezas, como as halógenas ou as de vapor de mercúrio a alta pressão. Além disso, a polimerização é visivelmente reproduzida para um determinado tempo de exposição, algo que nem sempre acontece com câmaras com lâmpadas que necessitam de tempo de aquecimento para total funcionamento (vapor de mercúrio a

alta pressão) ou aquecem o ambiente da amostra excessivamente (halógenas). Com o propósito de medir o aquecimento gerado pelas lâmpadas, um becker com água e termômetro foi exposto à radiação total da câmara por uma hora e a temperatura interna não alcançou 40 °C. É importante lembrar que a temperatura estabelecida durante a polimerização afeta sensivelmente a formação dos poros nos monolitos [3].

5.5 Conclusões

Como foi descrito, a construção de uma câmara de luz UV-Vis equipada com lâmpadas fluorescentes negras e brancas de 15 W de potência foi realizada com sucesso, bem como sua satisfatória aplicação na confecção de colunas monolíticas. Contando com todos os custos, inclusive mão de obra de engenheiro elétrico para montagem do circuito elétrico, a câmara não custou muito mais do que 300,00 Reais (US\$ 150,00). Todos os componentes (madeira, espelhos, reatores, lâmpadas etc.) são de fácil acesso em comércio local. É importante ressaltar que uma câmara comercial equipada com funções semelhantes foi cotada em US\$ 1.650,00, fora impostos. Dessa forma, o custo de uma câmara montada como foi descrita, em comparação com uma comercial, é bastante atraente.

Algumas modificações podem ser feitas em função da aplicação do fotoreator, como o número, tipo e potência das lâmpadas, geometria e tamanho da caixa e até janela de observação para cromatografia plana. Com estas vantagens, a produção de materiais fotopolimerizados, se torna uma alternativa atraente, principalmente para laboratórios que não dispõem de muitos recursos financeiros.

5.6 Referências

- 1 – Duarte, E.T.F.M.; Xavier, T.P.; Souza, D.R.; Miranda, J.A.; Machado, A.E.H.; Jung C.; Oliveira, L.; Sattler, C., *Quím. Nova*, **2005**, 28 (5), 921.
- 2 – Alvarenga, E.S.; Saliba, W.A.; Milagres, B.G., *Quím. Nova*, **2005**, 28 (5), 927.
- 3 – Takahashi, R.; Nakanishi, K.; Soga, N., *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **2005**, 33, 159.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES E ESTUDOS FUTUROS

6.1 Conclusões Específicas e Estudos Futuros

O processo de preparação de colunas monolíticas polimerizadas por fotoiniciação pelo método sol-gel foi desenvolvido com sucesso em capilares recobertos com revestimento de poliacrilato, que é suficientemente transparente à luz ultravioleta próximo ao visível e à luz visível. O emprego deste capilar facilita a visualização do sol inserido (o que permite que a injeção seja controlada), bem como observar a qualidade do monolito formado. Além disso, a polimerização por fotoiniciação, sem a remoção do revestimento protetor da coluna é, até agora, um fato inédito. A quantidade de porogênio foi estudada e relacionada com a permeabilidade da fase estacionária monolítica. As etapas de preparação de uma FEM se mostraram bastante simples, sendo algumas delas auxiliadas pelo próprio equipamento de Eletroforese Capilar.

As FEM preparadas neste projeto se mostraram como uma promissora alternativa para a análise de substâncias neutras e apolares, como o propilbenzeno, o fenantreno e o pireno. As avaliações realizadas puderam ser consideradas satisfatórias, pois estas indicaram a qualidade da FEM como meio de separação e deram uma estimativa da porosidade, além da sua robustez mecânica. Somente foi possível, para análises dos padrões por Eletrocromatografia Capilar, a utilização de capilares de 125 μm D.I. A diminuição do diâmetro interno deve ser, sem dúvida, o próximo passo para a otimização das análises destes compostos de teste.

Como foi descrito no Capítulo 5, a construção de uma câmara de luz UV equipada com lâmpadas fluorescentes negras e brancas foi realizada com sucesso, bem como sua satisfatória aplicação na polimerização fotoiniciada de FEM nos capilares utilizados. Com um investimento de menos de 300,00 Reais (US\$ 150,00), gastos na compra de componentes de fácil acesso, foi possível economizar US\$ 1.650,00 (fora os impostos), evitando-se a compra de um equipamento comercial similar e que, talvez, não atenderia a todas as necessidades de operação. Com estas vantagens, a produção de materiais polimerizados por fotoiniciação se torna uma alternativa atraente, principalmente para laboratórios que não dispõem de muitos recursos financeiros.

6.2 Conclusões Gerais e Estudos Futuros

Um dos grandes desafios neste projeto foi conseguir desenvolver um conhecimento dos processos e operações envolvidos na linha de pesquisa da preparação de colunas monolíticas para a CEC suficiente para promover uma contribuição na implementação desta técnica não muito explorada no Brasil. No entanto, o estágio de quatro meses nas dependências do Instituto de Química da UNESP-Araraquara, no grupo de pesquisa do Professor Sidney José Lima Ribeiro favoreceu e desencadeou um grande entendimento das questões relacionadas, principalmente à metodologia *sol-gel*, sem a qual não seria possível iniciar este trabalho.

Para que a CEC possa ser entendida como foi definida neste texto, ou seja, como uma técnica híbrida da Eletroforese Capilar e da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, algumas análises com o mesmo grupo de padrões devem ser feitos com estas três técnicas para efeito de comparação. Devem ser comparados os tempos das análises, as eficiências, repetibilidades e outros parâmetros pertinentes. Para isso, a implementação da CEC deve estar num patamar mais elevado para que seja entendido onde cada técnica mais contribui no ramo de separação.

No mérito das colunas monolíticas, conciliar um bom comprimento de fase estacionária para promover uma separação eficiente de moléculas apolares com uma boa transferência de massa de fase móvel, deve ser um dos primeiros objetivos para se trabalhar com Eletrocromatografia Capilar, sem sistema auxiliar de pressurização. Além deste, outro objetivo é conciliar uma boa resistência mecânica do monolito com sua alta porosidade, que são itens desejáveis, porém inversamente proporcionais.

Embora uma FEM tenha sido obtida e utilizada com relativo sucesso neste trabalho, vários esforços devem ser feitos em busca de condições que ofereçam alta eficiência e seletividade. Entretanto, é muito satisfatória, para este estudo exploratório, a confirmação da presença de uma FEM porosa e robusta, sem a qual não seria possível a separação destes três compostos neutros e apolares em sistemas similares de CE.

Um tipo de análise, que é fundamental para a determinação da morfologia dos monolitos, é a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), que permite a

visualização dos domínios e dos macro-poros, bem como estimar as suas dimensões. Esta e outras técnicas de caracterização, como a Espectroscopia no Infravermelho (IV), Espectroscopia Raman e Espalhamento de Raios X a Baixos Ângulos (SAXS do inglês), poderão ser utilizadas futuramente para complementar o estudo da formação das redes poliméricas.

Algumas tentativas de polimerização térmica foram feitas no início deste trabalho, utilizando-se como precursor polimérico o TEOS (tetraetilaortosilicato) e como porogênicos PEG 6000 (polietilenoglicol, $M_{\text{média}} = 6000$) e uréia. No entanto, a obtenção de monolitos não foi reprodutiva, mas futuras pesquisas também poderão ser desenvolvidas nesta direção.

Por fim, como o método de Eletrocromatografia Capilar ainda é novo no contexto mundial e, principalmente no contexto local, o número de perguntas é muito maior do que o de respostas e a quantidade de trabalho é muito maior do que a de resultados. Contudo, as poucas respostas e resultados obtidos neste trabalho são, no mínimo, satisfatórias.

APÊNDICE A

*TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DE COLUNAS
MONOLÍTICAS POR POLIMERIZAÇÃO TÉRMICA*

A.1 Introdução

Este apêndice tem o objetivo de mostrar estudos relacionados à tentativa de obtenção de monolitos termopolimerizados. Boa parte do tempo gasto neste trabalho foi dedicada à preparação de colunas monolíticas termopolimerizadas. Para estudos futuros que envolvam a termopolimerização, este texto poderá contribuir com informações relevantes.

Como já foi citado no Capítulo 1, o processo de polimerização de colunas monolíticas pelo método sol-gel pode ser acompanhado de tratamento térmico, onde o capilar contendo o sol é submetido a um sistema de aquecimento como estufa, mufla ou banho-maria. Se um monolito é obtido a partir de um alcóxido de silício e a ele é dado um tratamento térmico acima de 300 °C, a tendência é que a porção orgânica da estrutura polimérica seja perdida [1]. A FEM, somente à base de sílica, apresentará, então, caráter hidrofílico, ou seja, de fase normal. Do contrário, se cadeias orgânicas hidrofóbicas forem mantidas ligadas na estrutura monolítica, esta apresentará caráter de fase reversa.

A.2 Avaliação da temperatura máxima suportada pelo revestimento de poliacrilato

Este teste teve como objetivo entender até que temperatura o revestimento de poliacrilato agüenta manter sua massa e suas características físicas, como cor e resistência. Para isso, um capilar de 125 µm D.I. medindo 4,070 cm de comprimento foi submetido aos testes na mufla EDG3P-S 3000 (*EDG Equipamentos*) com controle de temperatura, velocidade de aquecimento e tempo de permanência. Após cada tratamento de 12 horas, o capilar era resfriado, pesado numa balança analítica e seu diâmetro externo era medido com paquímetro digital. Outros segmentos de capilares eram tratados da mesma forma apenas para estimativa da resistência. Os dados desta avaliação estão na Tabela A.1.

Tabela A.1. Efeitos da temperatura sobre o comportamento do revestimento de poliacrilato.

Temperatura (°C)	Massa (mg)	D.E. (mm)*	Características do revestimento
t.a. (~25)	7,8	0,39	Transparente (normal)
60	7,8	0,39	Transparente
100	7,8	0,39	Transparente
150	7,8	0,39	Transparente
200	7,6	0,38	Levemente amarelado
250	7,3	0,37	Cor de cobre metálico
275	6,8	0,36	Marrrom (menos resistência)
300	6,6	0,35	Preto (pouca resistência)
325	6,6	0,34	Preto (pouca resistência)
350	6,5	0,34	Preto (pouca resistência)
375	6,3	0,34	Preto (sem resistência)
400	6,3	0,33	Preto (sem resistência)

*Diâmetro externo medido com paquímetro digital.

A Figura A.1 mostra um gráfico da perda de massa cujos dados são apresentados na Tabela A.1.

Como pode ser notado, a partir de 200 °C o revestimento começa a sofrer alterações na sua coloração e a partir de 275 °C a resistência começa a diminuir (leves torções ocasionam quebras dos capilares).

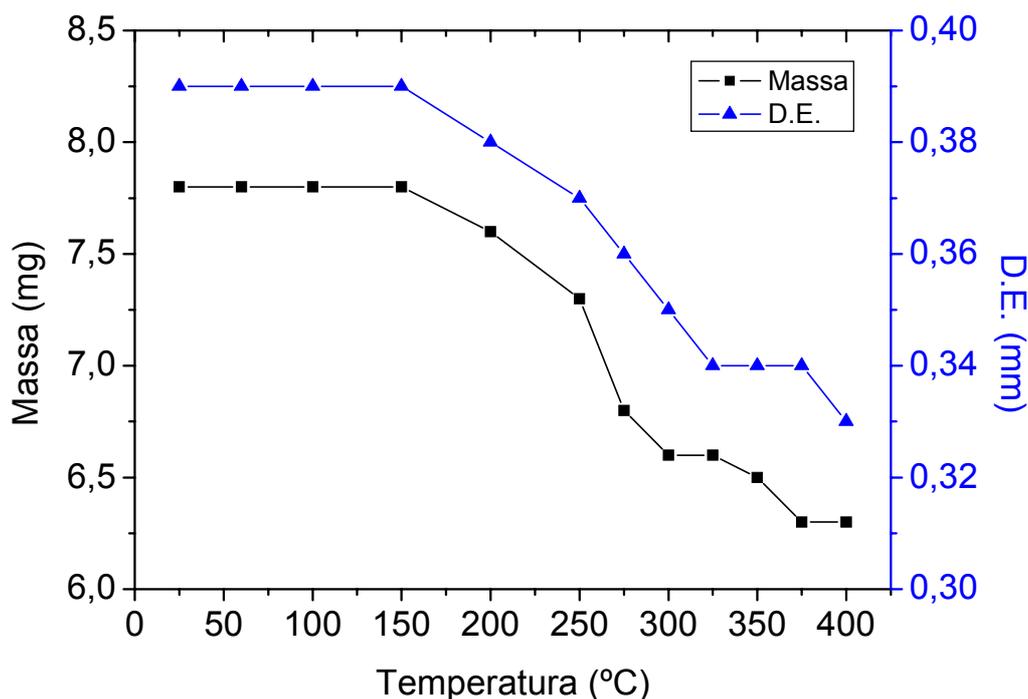


Figura A.1. Efeitos da temperatura aplicada sobre a perda de massa e a diminuição do diâmetro externo (D.E.) de um segmento de capilar com 4,070 cm de comprimento revestido com poliacrilato.

A.2.1 Cálculo para perda de massa do poliacrilato

Um outro capilar de mesmo diâmetro teve seu revestimento totalmente queimado com chama de gás propano / butano a fim de se calcular a massa mínima possível que o capilar submetido aos testes poderia chegar. O capilar, medindo 4,015 cm de comprimento e 7,5 mg passou a ter 6,0 mg de massa após a queima. Considerando que o revestimento possui uma distribuição homogênea ao longo do capilar, esta perda de 1,5 mg de poliacrilato corresponde a 1,52 mg (valor teórico calculado por regra de três simples) de perda máxima para o capilar de 4,070 cm, o que resultaria em 6,28 mg. Este valor se aproxima da massa medida após o tratamento térmico de 375 °C, indicando que o revestimento preto é apenas resíduos de decomposição térmica.

Estes resultados mostram que temperaturas superiores a 200 °C devem ser evitadas caso se queira manter as propriedades protetoras do poliacrilato.

A.3 Preparo de coluna monolítica termopolimerizável

Os sóis para termopolimerização foram preparados seguindo-se as etapas com base no trabalho descrito por Ishizuka *et al* [1]:

a) Mistura de 3,0 mL TEOS (Tetraetilaortosilicato) como precursor polimérico com 5 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹ como catalisador ácido com agitador magnético por 60 minutos, em banho de gelo (Figura A.2) para evitar formação do gel antes da injeção. Com o consumo de água e a liberação de etanol (veja Figura 2.7 no Capítulo 2), o meio se torna miscível. A utilização de agitação por ultra-som também se mostrou efetiva.

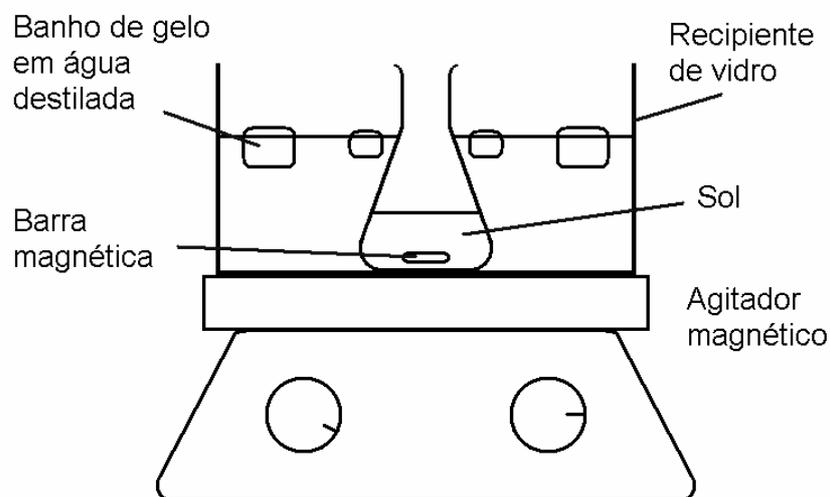
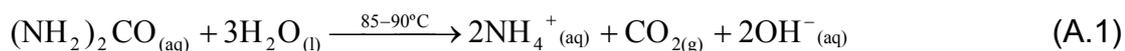


Figura A.2. Sistema de agitação em banho de gelo (0-5 °C).

A utilização de ácido acético 0,01 mol L⁻¹ como catalisador no preparo do sol foi feito, conforme é indicado [1], anteriormente ao uso do HCl 0,1 mol L⁻¹. Com este ácido fraco a polimerização foi pouco visível, mesmo fora dos capilares, em frascos de 1 mL.

b) Adição de 0,5 g de polietilenoglicol (PEG) 6000 e 0,5 g de uréia na mistura acima e constante agitação por mais 10 minutos. O PEG é um tipo de porogênio polimérico utilizado na produção de monolitos termopolimerizados (formação dos macroporos). Após a termopolimerização, o porogênio deve ser removido da estrutura monolítica. A uréia tem como função se decompor após a formação do gel, liberando gases, como nas equações das reações abaixo:



Os gases formados tendem a modelar os mesoporos do gel durante o tratamento térmico de 120 °C (etapa d).

Em função das massas e volumes de reagentes utilizados, a composição do sol é a seguinte: TEOS / H₂O (HCl 0,1 molL⁻¹) / PEG 6000/ uréia (3 / 5 / 0,5 / 0,5) – (v/v/m/m).

c) Preenchimento do capilar com o sol. Todos os capilares utilizados foram devidamente pré-tratados com NaOH 1,0 mol L⁻¹ em repouso e com trocas periódicas num total de uma hora. Como este era um estudo apenas para se detectar a presença ou não de monolitos, vários capilares foram necessários e o comprimento destes teve de ser reduzido, em torno de 5 cm, para não tornar inviável este processo exploratório. Com o uso deste comprimento e levando-se em conta a baixa viscosidade, na maioria das vezes não era necessário nem mesmo o sistema de injeção manual com seringa. Apenas o contato de uma das pontas do capilar no sol permite que este seja inserido por capilaridade em toda a extensão.

d) O tratamento térmico foi programado na mufla para 40 °C por 12 horas, em seguida 120 °C por 3 horas e depois 330 ou 650 °C foi aplicado de acordo com a Tabela A.2:

A permeabilidade foi testada pela tentativa de injeção de MeOH ou EtOH pela seringa. Os fragmentos citados na Tabela A.2 indicam uma formação falha de material em apenas alguns pontos no interior dos capilares.

Tabela A.2. Tratamentos térmicos elevados após geleificação e resultados obtidos.

D.I. (μm)	330 °C	650 °C	Características
70	24 h	-	Revestimento preto, impermeável
70	-	24 h	Perda do Revestimento, fragmentos no interior do capilar, pouco permeável
70	-	-	Fragmentos no interior do capilar, impermeável
125	24 h	-	Revestimento preto, pouca permeabilidade
125	-	24 h	Perda do Revestimento, fragmentos no interior do capilar, permeável
125	-	-	Fragmentos no interior do capilar, permeável
125 x 40*	-	-	Impermeável, inúmeras falhas

*Capilar de 40 cm de comprimento.

Como Nakanishi *et al* [2] fazem uso de tratamentos de 330 e 650 °C para síntese de monolitos, estas temperaturas também foram aplicadas, embora a temperatura máxima recomendada para manter a resistência mecânica do poliacrilato seja 200 °C (sugerido pela Tabela A.1). Entretanto, pelos resultados explícitos acima, não foi possível a obtenção de uma coluna monolítica que apresentasse homogeneidade ao longo do capilar e porosidade. Uma justificativa para este fato pode ser atribuída à dificuldade da remoção do PEG da estrutura formada. O porogênio pode ter ficado retido, obstruindo a passagem dos solventes (acarretando em impermeabilidade), ou ter sido removido do capilar bruscamente durante o aquecimento, arrastando consigo o precursor polimérico (resultando na sobra de resíduos fragmentados). Outra possibilidade é a temperatura empregada (40 °C) no processo de geleificação. Esta pode ser insuficiente para uma eficaz polimerização. Outros autores utilizam temperaturas maiores nesta etapa, como 60 °C [2,3] e 70 °C [4].

A.4 Perda de massa de PEG

Dois processos para a remoção do PEG são possíveis: mediante o próprio tratamento térmico elevado a seco [1-4] e mediante tratamento térmico em meio aquoso, já que este polímero é solúvel em água.

A.4.1 Tratamento térmico a seco

Um aquecimento de 200 °C por 24 horas dado a uma massa de 0,1483 g de PEG 6000 em frasco de vidro sem tampa resultou em 0,0035 g de resíduo, tingindo as paredes do frasco. Este teste é considerado satisfatório em amostras de monolito sintetizado em frascos abertos, mas em capilares, a remoção deste polímero é mais complicada. Para tentar resolver este problema, foi feito um estudo da perda do PEG sob tratamento térmico em meio aquoso.

A.4.2 Tratamento térmico em meio aquoso

Com o intuito de estudar a perda de massa de PEG em amostras de monolito, foi feito um sistema de banho para o tratamento das amostras de monolitos sintetizados em frascos abertos, conforme mostra a Figura A.3.

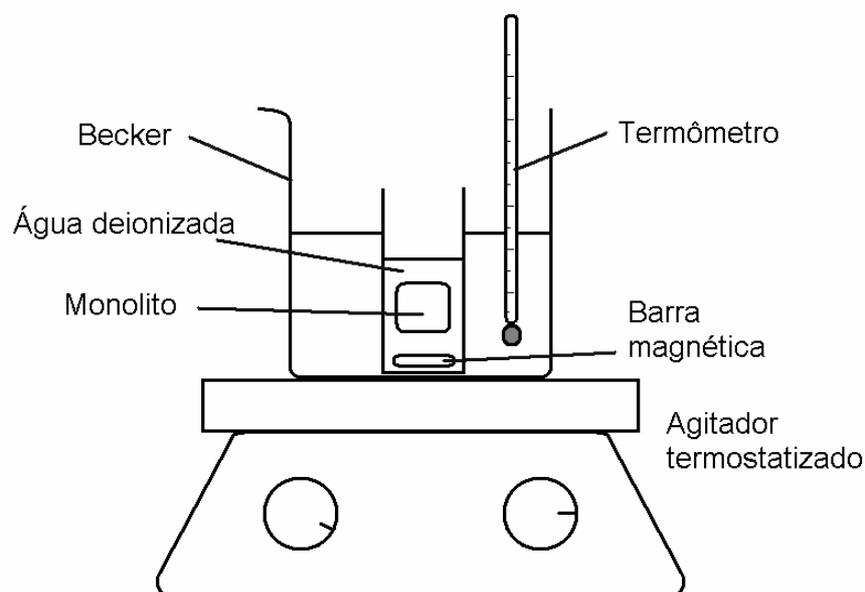


Figura A.3. Sistema de banho com agitação e tratamento térmico. Inicialmente, a amostra flutua sobre a água. Após algum tempo, a água penetra nos poros do monolito e este, então, vai para o fundo do frasco.

O experimento consistiu em medir as massas da amostra antes e após o banho em água deionizada a 90 °C por duas horas com lenta agitação. Elas foram

mantidas em estufa a 120 °C por doze horas para remoção da água. A Tabela A.3 mostra os resultados da perda de massa de amostras de monolito sintetizadas com PEG 6000, PEG 200 ou sem PEG.

Tabela A.3. Perda de massa de monolitos preparados com PEG 6000, PEG 200 e sem PEG em frascos abertos.

Teste	PEG	Massa inicial (g)	Massa final (g)	Perda (%)
1	-	0,3472	0,3154	9,2
2	200	0,2832	0,1194	57,8
3	6000	0,2625	0,1551	40,9

É visível que a perda de massa é maior quando se utiliza o PEG 200 como porogênio. Como a única diferença no preparo destes monolitos foi o tipo de PEG, pode-se dizer que existe uma influência na perda de massa total da amostra quando se usam estes diferentes porogênios.

Este tratamento térmico em meio aquoso é mais complicado para se adaptar nas colunas capilares.

O uso do PEG 200 na preparação de colunas monolíticas em capilares de 125 µm foi efetuado. As etapas de preparo foram as mesmas do item A.3, substituindo-se apenas o PEG 6000 pelo PEG 200. No entanto, não foi obtido sucesso. Nenhuma estrutura polimérica foi visualizada no interior dos capilares utilizados.

A.5 Conclusões

Neste apêndice foram mostrados os testes relacionados à obtenção de monolitos termopolimerizados, os quais não renderam resultados tão bons quanto os obtidos através de processo de polimerização fotoiniciada.

Como foi visto, a partir de 200 °C o revestimento passa a sofrer alterações na sua coloração e a partir de 275 °C a resistência começa a diminuir (leves torções ocasionam quebras dos capilares). Com isso, temperaturas superiores a 200 °C

devem ser evitadas caso se queira manter as propriedades protetoras do poliacrilato.

Não foi possível a obtenção de uma coluna monolítica que apresentasse homogeneidade ao longo do capilar e porosidade. Duas justificativas são possíveis: a) dificuldade da remoção do PEG da estrutura formada e b) baixa temperatura empregada no processo de geleificação.

É visível que a perda de massa é maior quando se utiliza o PEG 200 como porogênio no lugar do PEG 6000. No entanto, nenhuma estrutura polimérica foi visualizada no interior dos capilares de 125 μm e 70 μm .

Um tratamento térmico em meio aquoso foi aplicado em amostras sintetizadas em frascos abertos, fornecendo uma remoção de massa satisfatória de quase 60%. Porém, não foi possível adaptar este teste nas colunas capilares.

A.6 Referências

- 1 - Ishizuka, N.; Minakuchi, H.; Nakanishi, K.; Soga, N.; Nagayama, H.; Hosoya, K.; Tanaka, N., *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 1275.
- 2 – Amatani, T.; Nakanishi, K.; Hirao, K.; Kodaira, T., *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 2114.
- 3 – Sondergeld, L.J.; Bush, M.E.; Bellinger, A.; Bushey, M.M., *J. Chromatogr. A*, **2003**, 1004, 155.
- 4 – Gusev, I.; Huang, X.; Horvath, C., *J. Chromatogr. A*, **1999**, 855, 273.

APÊNDICE B

CURRICULUM VITAE

1 - DADOS PESSOAIS

Nome: Fernando Antonio Simas Vaz.
Filiação: Ruy Pereira Vaz e Telma Simas Vaz.
Nascimento: 30/03/1981, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Endereço residencial: Rua Doutora Dulce Palmer, 64,
(preferencial para Bairro Nossa Senhora de Lourdes;
correspondências) 36070-620 Juiz de Fora, MG – Brasil.
Telefones: (32) 3235 4964 e (32) 9121 6222;
E-mail: nando_simas@yahoo.com.br

Endereço profissional: Universidade Federal de Juiz de Fora,
Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química.
Campos Martelos, s/n, Cidade Universitária;
36036-330 Juiz de Fora, MG – Brasil.
Telefone: (32) 3229 3310, ramal 24. Fax: 3229 3314.

2 - FORMAÇÃO ACADÊMICA / TITULAÇÃO

2005 - 2007 Mestrado em Química.
Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Minas Gerais, Brasil.
Título: “*Preparação de Fases Estacionárias Monolíticas em Capilares Revestidos com Poliacrilato para Aplicação em Eletrocromatografia Capilar*”.
Orientador: Marccone Augusto Leal de Oliveira.
Bolsista da: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

2001 - 2004 Graduação em Química (Bacharelado).
Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Minas Gerais.
Título da monografia: “*Aplicação da Eletroforese Capilar na Determinação de Ácidos Graxos de Cadeias Curta e Média em Amostras de Manteiga*”.
Orientador: Marccone Augusto Leal de Oliveira.

2001 - 2006 Graduação em Química (Licenciatura).
Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Minas Gerais.

1997 - 1999 Ensino Profissionalizante de Nível Médio em Técnico em Química.
Colégio Pio XII, Juiz de Fora, Minas Gerais.

3 - FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

1993 – 1996 Curso Básico de Língua Inglesa, Associação Cultural Brasil - Estados Unidos, Juiz de Fora.

- 1996 – 1997 Inglês Complementar, Associação Cultural Brasil - Estados Unidos, Juiz de Fora.
- 1997 Curso Básico de Conversação em Língua Inglesa, Associação Cultural Brasil - Estados Unidos, Juiz de Fora.
- 1997 Higiene na Indústria de Alimentos. (Carga horária: 8h)
Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, UFJF/FFB.
- 2004 Análise Multivariada. (Carga horária: 5h)
Universidade Federal de Lavras, UFLA, Minas Gerais, Brasil.
- 2004 Análise de Macro e Microelementos por Espectrometria de Absorção Atômica e Espectrometria UV/Visível. (Carga horária: 4h)
Embrapa Gado de Leite, EMBRAPA, Juiz de Fora.
- 2005 Pesquisa Pública para o Desenvolvimento do Setor Leiteiro Nacional. (Carga horária: 4h)
Núcleo de Treinamento em Bovinocultura Leiteira Tropical - NUTRE, Embrapa, Juiz de Fora.
- 2005 Filmes Finos. (Carga horária: 16h)
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP - Araraquara, São Paulo.

4 – ESTÁGIOS

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite – CNPGL, Juiz de Fora, Minas Gerais:

- 1 - Atividades:** Acompanhamento e execução de atividades laboratoriais referentes ao subprojeto de pesquisa "Fatores Ambientais e de Manejo que Contribuem para a Ocorrência da Mastite em Rebanhos Bovinos Leiteiros".
- Período:** 9/1998 – 12/1999
- Vínculo institucional:** Bolsista de nível técnico
Enquadramento funcional: Estagiário.
Carga horária: 40h semanais (9/1998 – 10/1998);
Carga horária: 20h semanais (11/1998 – 12/1999).

Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, Instituto de Ciências Exatas – ICE:

Departamento de Matemática:

- 2 - Atividade:** Monitoria da Disciplina Cálculo I.
Período: 10/2002 – 01/2003
Vínculo institucional: Bolsista – PROGRAD;
Enquadramento funcional: Monitor.
Carga horária: 12h semanais.

Departamento de Química:

- 3 - Atividade:** Monitoria das Disciplinas Química Analítica III e Química Analítica Instrumental I.
Períodos: 09/2003 – 01/2004 e 04/2004 – 07/2004
Vínculo institucional: Bolsista – PROGRAD;
Enquadramento funcional: Monitor.
Carga horária: 12h semanais.
- 4 - Atividade:** Execução do projeto “*Aplicação da Eletroforese Capilar na Determinação de Ácidos Graxos de Cadeias Curta e Média em Amostras de Manteiga*”.
Período: 6/2004 – 6/2005
Vínculo institucional: Bolsista de Iniciação Científica – BIC.
Enquadramento funcional: Aluno de Iniciação Científica.
Carga horária: 12h semanais.

5 - PRODUÇÕES CIENTÍFICAS E TECNOLÓGICAS

Resumos simples em anais de eventos

- 1 -** VAZ, Fernando Antonio Simas; OLIVEIRA, V. N.; OLIVEIRA, M. A. L. de. *Aplicação da Eletroforese Capilar na Determinação de Ácidos Graxos de Cadeias Curta e Média em Amostras de Manteiga*. No: 18º ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Lavras/MG, 2004.

2 - VAZ, Fernando Antonio Simas; OLIVEIRA, V. N.; OLIVEIRA, M. A. L. de; TAVARES, M. F. M. *Determination of Short Fatty Acids in Butter by Capillary Electrophoresis*. No: 11º SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE ELETROFORESE CAPILAR - LACE, Guarujá, 2005.

Participação em eventos científicos

- 1 - 1º Simpósio de Química Aplicada, Colégio Pio XII, Juiz de Fora, MG, 1997.
- 2 - 5º Encontro Nacional sobre Metodologias dos Laboratórios da Embrapa, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, 1999.
- 3 - 18º Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Lavras, MG, 2004.
- 4 - 11º Simposio Latinoamericano de Eletroforese Capilar – LACE, Guarujá, SP, 2005.
- 5 - 35ª Semana da Química, Instituto de Química da UNESP, Araraquara, SP, 2005.
- 6 - 10ª Semana do Instituto de Ciências Exatas, UFJF, Juiz de Fora, MG, 2006.

Seminário científico

“Câmara UV-visível para Preparação de Colunas Monolíticas”, apresentado em *Workshop* de Química Analítica, durante a 10ª Semana do Instituto de Ciências Exatas – Departamento de Química, 2006.

Artigos para publicação em revistas científicas:

- 1 - “Preparation of Photopolymerized Sol-Gel Monolithic Column in Polyacrylate-Coated Capillary”. Artigo em preparação.
- 2 - “Câmara de Luz Ultravioleta para Aplicações como Reator Fotoquímico. Artigo em preparação”.

Produto tecnológico sem registro ou patente:

Câmara de Luz Ultravioleta-Visível para Aplicações como Reator Fotoquímico, 2006.