

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DOUTORADO EM QUÍMICA

Sandro Pereira Ribeiro

**CONSTRUÇÃO DE DISPOSITIVOS DE PRESSURIZAÇÃO E DE
AQUECIMENTO PARA A PREPARAÇÃO E FUNCIONALIZAÇÃO DE FASES
ESTACIONÁRIAS MONOLÍTICAS VIA PROCESSO SOL-GEL**

JUIZ DE FORA
2015

Sandro Pereira Ribeiro

**CONSTRUÇÃO DE DISPOSITIVOS DE PRESSURIZAÇÃO E DE
AQUECIMENTO PARA A PREPARAÇÃO E FUNCIONALIZAÇÃO DE FASES
ESTACIONÁRIAS MONOLÍTICAS VIA PROCESSO SOL-GEL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora, para obtenção do grau de Doutor em Química.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcene Augusto Leal de Oliveira
Departamento de Química - UFJF

JUIZ DE FORA

2015

“O tempo é imperceptível, porém sentido”

Aristóteles

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, é sua a honra o poder e a gloria agora e para sempre, inteligência suprema condutor de nossas vidas, quem faz a atmosfera reger a nosso favor.

Ao meu orientador, amigo e professor, que junto com meus pais mostrou-me ser uma das melhores pessoas que tive a felicidade de conhecer, exemplo de virtudes e sabedoria, obrigado dr. Marcone augusto leal de oliveira.

Ao amigo e professor que prestou-me ajuda na execução do trabalho Dr. professor Wendel de Andrade Alves da universidade federal do ABC.

Ao professor José Paulo da física pelo apoio, amizade e comprometimento nas construções dos aparatos e dispositivos. Sem o qual não seria possível otimizar e desenvolver os dispositivos.

Ao professor júlio César José da Silva e sua esposa Lilian do departamento de química da universidade Federal de Juiz de Fora- UFJF- MG por toda compreensão, apoio, carinho, amizade e ensinamentos.

Ao Dr. professor Rafael Arromba pela amizade, companheirismo, ensinamentos e apoio.

Ao Dr. professor Gustavo Fernandes Souza andrade pelas ajudas nas análises no meu e nas nanopartículas de ouro. Assim como à amizade em toda a caminhada.

Aos grandes Professores e coordenadores do departamento de Química da UFJF. Muito Obrigado

Ao Dr. professor Luis Fernando por ter me dado a oportunidade do aprendizado.

Ao meu amigo Lucas Matos Duarte por todos os momentos vividos ao seu lado, você é dez, craque de bola, sinuca e de química.

Ao meu grandioso amigo Marcelo de Oliveira Biolcati e seu filho Arthur Biolcati pela amizade, companheirismo, karatê e ajuda nas análises.

Ao moçambicano botafoguense ilustre Pedro Lino Jone, pela amizade, conversas e ensinamentos, principalmente de que no mundo não existem barreiras.

Ao amigo Pedro Fazza do departamento de química pelo empenho e carinho nos trabalhos e na convivência.

Ao amigo Linus Pauling pela grande gentileza, amizade, paciência e apoio.

À Renata Castro, por todo companheirismo, amizade, ensinamentos e apoio.

À Brenda Lee Porto e ao Thiago Mendes pelo companheirismo, instruções, amizade e ajuda.

À Renata Sato pela amizade e ensinamentos.

Aos meus amigos do GQAQ, obrigado, e sorte para todos.

Aos responsáveis técnicos, alunos e professores da pós-graduação da ufjf do departamento de química. Meu muito obrigado!

A Flávia Aparecida Ribeiro Teixeira pela ajuda na tese, pelo companheirismo, amizade e amor.

Ao amigo Diego Pascoal por ter me acolhido em sua casa.

Aos amigos Fabio Fernandes, Wilian Novato, Wilian Caneshi, Celso, Igor, Melina, Aparecida, Gilson, Gustavo e gustavo (perito).

Aos meus eternos professores e amigos do mestrado, no instituto militar de engenharia-IME - RJ, Ardson Vianna Junior, Clélio Thaumaturgo, Bluma Guenter - (UFRJ), Major Santiago, alcino palermo, Vilma, Luiz, Figueroa.

Ao amigo conterrâneo Gabriel Elmôr pelo carinho, companheirismo e apoio.

Aos amigos professores da Universidade Severino Sombra- USS-RJ.

Aos meus eternos professores e amigos Maria Aparecida, Marco Antonio Soares, Irineu Junior, Felipe Brasil, Paulo Henrique, Carlos Eduardo (cadu), Cláudio Peixoto, Cesar C. Simões, Antônio Isolani, Davi e Almir Clain.

Ao grande amigo Miguel Fraguas Rascado pela amizade e companheirismo.

Ao amigo Jailson Marques pelo companheirismo e amizade.

À amiga Erika vieira barbosa pela amizade.

Aos meus amigos Jadir Rodrigues Fagundes Neto e Walter Brandão pelo apoio dado em 10 meses para a conclusão da minha 2ª graduação.

As meus falecidas avós e avôs, Orestes Ferreira, Maria Ferreira, Olinda Alves Pereira e Sebastião Alves Pereira.

Aos meus tios, amigos e primos que sempre estiveram presentes em minha vida, Arnestino martins, Maria Aparecida Nunes (*in memoriam*), Márcio Nunes de Oliveira, Flávia Nunes, Marcelo Nunes de Oliveira e Cleide Nunes, Manoelina Alves Pereira, Teresa Alves Pereira, Benedita Alves Pereira, Décio Alves Pereira, Antonio Carlos, Geralda Alves Pereira, Patrícia coelho, Paula e Luisinho.

Ao meu grande amigo Cláudio Barros por passarmos a noite de natal, 2014, na UPA. Amigo de longa jornada, marca registrada de amizade em minha vida.

Ao amigo de infância no qual vivemos muitas histórias, Henrique Almeida Silvestre e sua mãe Lúcia Maria Almeida Silvestre.

Aos amigos Wendel Vieira de Souza, Maria, Arthur e Tayla pela amizade.

Ao amigo Daniel Coelho pelos longos anos de companhia.

Ao amigo Aduino de Oliveira e Luiza de Oliveira pela amizade de sempre.

Ao grande amigo botafoguense Evandro Peclate pela amizade, ensinamentos e companheirismo desde o mestrado.

Aos amigos Adriano Garcia da Fonseca, Rodrigo, Gustavo, Luciana, Omar, Celeste e Olga Fonseca. Obrigado por tudo!

Ao amigo Rodrigo Mello, digu, pela amizade.

Àos amigos Leonardo, Frederico, Ângelo e toda a família Lopardi.

Ao amigo Aurélio companheiro de sempre.

Ao amigo e companheiro Leonardo Salomão.

Ao amigo Luis Augusto Alves pelas trocas de experiências.

Aos amigos da pelada do Aduino Guerra.

Ao amigo Mario Yoshio Okamoto.

Ao amigo Saul Germano Quadros pelo incentivo no mestrado.

À Fabiano Martins de Cristo pela amizade.

À Célia Correa e Castro pelas correções no português da versão final da tese.

À todos que de alguma forma contribuíram com a minha formação acadêmica e de vida.

À a coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pela bolsa concedida desde o mestrado até o fim do doutorado.

Ao CNPq e à fapemig pelo apoio financeiro.

A Universidade Federal de Juiz de Fora e aos coordenadores do departamento de química.

RESUMO

No presente trabalho foi proposto a compreensão das variáveis inerentes à criação de infraestrutura adequada para preparação de fase estacionária monolítica (FEM) utilizando colunas capilares de 100 mm de diâmetro interno para aplicação em electroromatografia capilar (CEC). A fim de alcançar a elucidação do processo de funcionalização do monólito, as FEM foram produzidas por química de sol-gel. Neste caso, a mistura otimizada de reagentes origina o sol que muda de um estado líquido para o estado de gelificação no interior do tubo capilar, resultando em uma superfície polimérica. Dentro deste contexto, foi desenvolvido um dispositivo manual para alta pressão (DMAP) para a inserção do sol nas colunas capilares. O DMAP à vácuo montado foi desenvolvido no Grupo de Química Analítica e Quimiometria (GQAQ) a fim de tornar possível a produção de colunas monolíticas de maneira otimizada e reprodutível. Este dispositivo tornou possível o preenchimento interno da coluna capilar de forma homogênea através do trabalho forçado em movimento, como capilaridade, na qual o sol é introduzido diretamente do frasco ao capilar, evitando o contato do sol com acessórios e dispositivos, como conexões, seringas e agulhas. Como objetivo secundário, estudos para preparação das FEM modificadas por nanopartículas de ouro-AuNps foram realizadas. As AuNps foram sintetizadas através da reação de redução com o citrato de sódio e a passivação com o uso da quitosana. As nanopartículas foram ancoradas na superfície do monólito para melhorar a funcionalização das FEM e possibilitar testes com diversos analitos. Essa reação foi caracterizada por Microscopia Eletrônica de Transmissão- MET, Microscopia Eletrônica de Varredura- MEV, Ultravioleta Visível- UV-Vis. Nesse mesmo tempo foi montado um segundo dispositivo denominado mini-forno para aquecimento radial homogênea do tubo capilar, a fim de atingir a funcionalização adequada. Finalmente, todas as colunas preparadas e funcionalizadas com sucesso foram submetidas a testes de separação de mistura padrão de HPAs.

Palavras chaves: Química sol-gel. Fotopolimerização. Fase estacionária monolítica. Eletrocromatografia capilar.

ABSTRACT

In the present work the understanding of the inherent variables to establishment of adequate infrastructure to monolithic stationary phase (MSP) preparation using capillary columns at 100 μm of internal diameter to application in capillary electrochromatography (CEC) was proposed. Thus, in order to achieve the elucidation of the monolithic functionalization process, the MSP were produced by sol-gel chemistry. In this case, the optimized mixture of reagents originates the sol which changes from liquid state to the jellification state inside the capillary tube, resulting in a polymeric surface. Within this context, was developed a manual device to high pressure (MDHP) for sol insertion into the capillaries columns. The vacuum MDHP assembled was developed in the Grupo de Química Analítica e Quimiometria (GQAQ) in order to make possible the optimized and reproducible monolithic columns production. This device made possible the internal fill of the capillary column in homogenous way through of forced moving such as capillarity, in which the sol is introduced direct from the vial to the capillary, avoiding the contact of the sol with accessories and devices such as connections, syringes and needles. This procedure avoids air passage into the capillary tube and the contamination of devices and accessories, providing the operation in presence of any type of solution. Thus, the MDHP became possible a significant advance in the understanding of the MSP preparation mediated by sol-gel chemistry and photopolimerization. As a secondary objective, studies to preparation of MSP modified by gold nanoparticles were carried out. In this same time was assembled a second device called mini oven to homogeneous radial heating of the capillary in order to achieves the adequate functionalization. Finally, all columns prepared and functionalized with success were submitted to tests of HPAs standard mixture separation.

Keywords: Sol-gel chemistry. Photopolimerization. Monolithic stationary phase. Capillary electrochromatography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Equipamento de eletroforese capilar.....	19
Figura 2	Esquema do FEO dentro do capilar.....	20
Figura 3	Fase estacionária recheada.....	23
Figura 4	Fase estacionária tubular aberta.....	23
Figura 5	Fase estacionária monolítica – FEM.....	25
Figura 6	HPAs usados como analitos.....	26
Figura 7	Seringa, agulha seguida por conector PEEK- 1, Junção True-ZDV- 2 e o conector final- 3.....	30
Figura 8	Câmara de fotopolimerização.....	30
Figura 9	Reações genéricas da catálise ácida.....	33
Figura 10	Polímero PTMS que forma a FEM.....	35
Figura 11	DMAP (otimizado) e o sentido do seu funcionamento para inserção a vácuo. 1) reservatório de sol, 2) capilar, 3) conectores para o capilar e a agulha, 4) seringas, 5) plataforma fixa, 6) plataforma móvel, 7) componentes auxiliares para injeção a vácuo.....	37
Figura 12	Cartucho de EC e modo de injeção outlet em direção ao inlet.....	39
Figura 13	Falhas causadas na FEM devido ao preenchimento irregular.....	42
Figura 14	DMAP I – Protótipo I desenvolvido no GQAQ.....	44
Figura 15	DMAP II- Capacidade de operar duas seringas. Plataforma móvel-(A) com a possibilidade de avanço no funcionamento.....	45
Figura 16	A e B- Esporádicas FEM com aspecto homogêneo produzida com o DMAP II.....	47
Figura 17	FEM produzidas com falhas visíveis em suas estruturas.....	48
Figura 18	Reação resumida do fotoiniciador com o oligômero condensado.....	49
Figura 19	Fotografia entre a FEM no capilar e a foto do capilar sem o monólito.....	50
Figura 20	Possíveis avarias no revestimento da FEM Figuras A e B.....	52
Figura 21	FEM com revestimento sem avaria.....	53
Figura 22	Desenho de um monólito com problema de preenchimento.....	54
Figura 23	Desenho técnico do projeto DMAP a vácuo.....	55
Figura 24	DMAP a vácuo - Movimento de sucção do sol.....	56

Figura 25	Encaixes de segurança para seringa e êmbolo construído em parceria com o departamento de física da UFJF.....	56
Figura 26	Movimento de recuo da plataforma móvel do DMAP II.....	57
Figura 27	Figura 32 - Eletrocromatogramas obtidos em colunas produzidas A, B, C e D em capilar TSU Ordem de eluição: (1)tiouréia, (2) naftaleno, (3) acenafteno, (4) fluoreno e (5) fenantreno, diluídos em metanol a 1,0 mmol L ⁻¹ . FM: NH ₄ Ac 16,7 mmol L ⁻¹ (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV; temperatura: 20 °C; injeção: -25 mbar por 5 s; detecção: 220 nm.....	58
Figura 28	Estrutura do agente sililante- MPTMS usado como reagente de funcionalização ou de pré-funcionalização.....	64
Figura 29	Fotografia da FEM pré-funcionalizada conforme método 1 após passagem das AuNps.....	65
Figura 30	FEM A e B pré-funcionalizadas com falhas na coloração violeta conforme método 2.....	66
Figura 31	A -construção do Mini-forno para aquecimento da FEM B –Mini-forno reduzido.....	67
Figura 32	A e B - FEM após uso do mini-forno.....	68
Figura 33	Eletrocromatogramas A e B obtidos em uma coluna produzida em capilar TSU em análise com: tiouréia- A (1mmol) eB – tiouréia, naftaleno, acenafteno, fluoreno e fenantreno, diluídos em metanol a 1,0 mmol L ⁻¹ . FM: NH ₄ Ac 16,7 mmol L ⁻¹ (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV; temperatura: 20 °C; injeção: -25 mbar por 5 s; detecção: 220 nm.....	71
Figura 34	Equação de redução do ouro.....	73
Figura 35	Foto da reação das AuNps produzidas nesse trabalho.....	74
Figura 36	Metionina usada como agente passivante.....	74
Figura 37	TEM das sínteses das AuNps com proporções variadas do estabilizador citrato de sódio.....	76
Figura 38	Monômero do Polissacarídeo de quitosana.....	77
Figura 39	UV-VIS das nanoparticulas.....	78
Figura 40	Reação resumida dentro do capilar após pré-funcionalização, a passagem das AuNps no capilar.....	79
Figura 41	FEM funcionalizada, pré-funcionalizada e capilar sem FEM.....	80

Figura 42	A, B, C e D Microscopia eletrônica de varredura – MEV de capilar com FEM funcionalizadas com AuNps.....	80
Figura 43	Eletrocromatograma obtido em uma coluna monolítica funcionalizada- (1) em capilar TSU em análise com: tioureia (1 mmol L^{-1}). FM: NH_4Ac $16,7\text{ mmol L}^{-1}$ (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV; temperatura: $20\text{ }^\circ\text{C}$; injeção: -25 mbar por 5 s; detecção: 220 nm.....	81
Figura 44	FEM- (1 e 2) funcionalizada com AuNps. Eletrocromatogramas obtidos em uma coluna produzida em capilar TSU em análise com: tioureia ($0,1\text{ mmol L}^{-1}$ em metanol), naftaleno, acenafteno e fluoreno, diluídos em metanol a $1,0\text{ mmol L}^{-1}$. FM: NH_4Ac $16,7\text{ mmol L}^{-1}$ (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV; temperatura: $20\text{ }^\circ\text{C}$; injeção: -25 mbar por 5 s; detecção: 220 nm.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Quantidade de reagente no preparo do sol.....	34
Tabela 2	Forma de preparo dos HPAs usados nas análises em CEC.....	37
Tabela 3	Condições de funcionamento do equipamento de CE.....	40
Tabela 4	Etapas de Produção da FEM.....	46
Tabela 5	Tempo de reparo com problemas na inserção da FEM.....	47
Tabela 6	Temperatura de preenchimento, polimerização e limpeza da FEM.....	60
Tabela 7	Temperatura de armazenagem do sol usado no preenchimento das FEM.....	61
Tabela 8	Tempos de armazenagem da FEM em espera para análise em ECC.....	61
Tabela 9	Condições gerais de trabalho no preenchimento das FEM.....	62
Tabela 10	Resultados do CHNS.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN - Acetonitrila

ADD - Arranjo de diodos

AuNps - Nanopartículas de ouro

CLAE - Cromatografia líquida à alta eficiência

CHNS - Análise Elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre

d.e. - Diâmetro externo do capilar

d.i. - Diâmetro interno do capilar

DMAP - Dispositivo Manual à Alta Pressurização

ECC - Eletrocromatografia capilar

EC - Eletroforese capilar

ECZ - Eletroforese capilar de zona

FEM - Fase estacionária monolítica

FE - Fase estacionária

FEO - Fluxo eletrosmótico

MeOH - Metanol

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

NH₄Ac - Acetato de amônio

PTMS - metacriloxipropiltrimetoxisilano

SPTMS - 3-mercaptopropiltrimetóxisilano

TEM - Microscopia Eletrônica de Transmissão

TSU - Tetra- flúor etileno

UV - Ultravioleta

UV-Vis - Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	ELETROFORESE CAPILAR	18
2.2	ELETROCROMATOGRAFIA CAPILAR	21
2.3	HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS	25
2.4	NANOPARTÍCULAS DE OURO	26
3	OBJETIVOS	28
4	EXPERIMENTAL	29
4.1	EQUIPAMENTOS	29
4.1.1	Equipamento de EC	29
4.1.2	Centrífuga	29
4.1.3	Seringas e Conexões	29
4.1.4	Câmara de fotopolimerização	30
4.1.5	Espectrofotômetro de UV	31
4.1.6	Análise Térmica gravimétrica-TGA	31
4.1.7	Microscopia Eletrônica de Transmissão- TEM	31
4.1.8	Análise elementar- CHNS	32
4.1.9	Microscópio de baixa resolução USB chinês	32
4.2	REAGENTES E PADRÕES	32
5	MÉTODOS	33
5.1	PRODUÇÃO DE FASES ESTACIONÁRIA MONOLÍTICAS	33
5.2	PRÉ-TRATAMENTO DA COLUNA CAPILAR	39
5.3	PREENCHIMENTO DA COLUNA CAPILAR	36
5.4	PÓS TRATAMENTO DO CAPILAR DE SÍLICA	38
5.5	PREPARO DOS POLIHIDROCARBONETOS AROMÁTICOS- HPAS	38
5.6	PREPARO DA FASE MÓVEL- FM	38

5.7	CONDICIONAMENTO DO CAPILAR PREENCHIDO COM A FEM	39
5.8	SÍNTESE DAS NANOPARTICULAS DE OURO	40
5.9	PRÉ-FUNCIONALIZAÇÃO.....	40
5.10	FUNCIONALIZAÇÃO DAS FEM.....	41
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
6.1.	CONSTRUÇÃO DO DISPOSITIVO - DMAP	42
6.2	PRÉ-FUNCIONALIZAÇÃO DA FEM COM REAGENTE SILILANTE	63
6.2.1	Caracterização.....	69
6.2.2	Análises em CEC	71
6.3	SÍNTESE DAS NANOPARTICULAS DE OURO- AUNPS	72
6.3.1	Reação de formação das AuNps.....	73
6.3.2	Caracterização.....	75
6.4	FUNCIONALIZAÇÃO COM NANOPARTÍCULAS DE OURO DA FEM	78
6.4.1	Reação.....	79
6.4.2	Caracterização.....	79
6.4.3	Análises em CEC	81
7	CONCLUSÃO	84
	REFERÊNCIAS	86
	ANEXO.....	97
	Pespectivas futuras de estudo nesta linha de pesquisa	97

1 INTRODUÇÃO

A eletrocromatografia capilar (ECC) pode ser definida como uma técnica analítica de separação que ocorre em meio líquido, sob a presença de um campo elétrico, dentro de tubos capilares preenchidos com fase estacionária (FE). Esta técnica combina os parâmetros relevantes da eletroforese capilar (EC) e da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (HILDER, 2004; KATO, 2002; LOUGH, 1995). Esse processo baseia-se na migração do analito através de uma coluna cromatográfica, movido por eletrosmose. O funcionamento ocorre em um equipamento de eletroforese, com algumas adaptações na pressão externa usada no equipamento para auxiliar o fluxo da fase móvel (LÜ, 2005; ZEISBERGEROVÁ, 2006).

De acordo com estudos anteriores a ECC promove melhoria em alguns fatores indesejáveis da CLAE como a necessidade de altas pressões para bombeamento da fase móvel, o que gera um perfil de fluxo parabólico e diminui a eficiência das análises (VAZ, 2007; VAZ, 2008; VAZ *et al.*, 2012; TAVARES, 1996; COLLINS, 1993; 1995; PONCE, 2011). Em comparação com a EC, a ECC apresenta maior seletividade, devido ao emprego de fases estacionárias inseridas no interior do capilar, semelhante à CLAE (KATO, 2006). Porém, a ECC usa a diferença de potencial (ddp) da EC, o que gera um perfil planar ao fluxo do analito e forma picos mais estreitos e agudos para uma boa separação (PATERSON, 2000; A JORGENSON, 1981; SEGATO *et al.*, 2009). A diferença de potencial aplicada, junto com as cargas presentes na parede do capilar, geram o fluxo eletrosmótico (FEO) responsável pela migração da Fase Móvel (FM) líquida através da Fase estacionária monolítica (FEM) (WÄTZIG; 2003). O analito presente na FM quando em uso, ao passar na frente do detector gera um pico característico, de acordo com o comprimento de onda de absorção. O gráfico de sinal em função de tempo de retenção recebe o nome de eletrocromatograma.

A ECC permite a separação dos vários tipos de substâncias e compostos, tais como: aminoácidos e peptídeos (SHEDIAC, 2001), proteínas (BANDILLA, 2003), antraquinonas (HAIXIA, 2007), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - HPA (KATO, 2002) e determinações mais complexas como a de isômeros (M. LÄMMERHOFER, 2000).

Com base na revisão bibliográfica deste trabalho, bem como nos experimentos realizados, foi possível perceber que a grande dificuldade encontrada, ao trabalhar com esta técnica, está na produção das colunas monolíticas que são formadas quando a FEM

é inserida no capilar. Esta dificuldade acarreta falta de reprodutibilidade na reação de formação do monólito, ou FEM *in situ* no qual percola a FM, o que interfere diretamente nos perfis das separações. A formação do polímero – onde ocorrem formações porosas aleatórias dentro do capilar – é de difícil controle, o que acaba comprometendo a reprodutibilidade das análises. Em cada corrida eletrocromatográfica, pode ser comum a obtenção de perfil de eletrocromatogramas variados – tanto na ordem de migração quanto na resolução - para cada coluna monolítica preparada sob as mesmas condições (SVEC, 2006; JINNO, 2000).

Cabe ressaltar que a formação incorreta e irreprodutível do leito polimérico, causado pelas diferentes formas, posições e tamanhos dos poros modelados no momento da polimerização é o grande responsável pela variação mencionada acima. De fato, normalmente não se pode controlar e reproduzir as formas, posições e tamanhos dos poros que dependem diretamente da quantidade do agente porogênico e da iniciação da polimerização *in situ* na coluna (JIANG, 2001).

Além do exposto acima, outro problema que ocorre, segundo relatos em outros trabalhos nesta área (PONCE, 2011) estão na inserção e na reação do monólito dentro do capilar, o que, junto com a formação dos poros e a produção da janela de detecção, são os momentos mais críticos de toda a produção da FEM. Desta forma, o foco do trabalho consistiu em conseguir reprodutibilidade na produção da FEM com base no perfil de separação da mistura de padrões de HPAs. Para tanto, foram desenvolvidos e otimizados aparatos para auxiliar e controlar a inserção do sol, o aquecimento na pré-funcionalização, e com isso a formação e funcionalização do monólito. Concomitantemente foi também realizado um breve estudo envolvendo o tempo e a temperatura no modo de preparo, estoque e manuseio da solução polimérica- Sol usada no Grupo de Química Analítica e Quimiometria (GQAQ). Todos os procedimentos tiveram o intuito de investigar e contribuir com a evolução de cada fator fundamental na formação das FEM produzidas para uso em eletrocromatografia.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

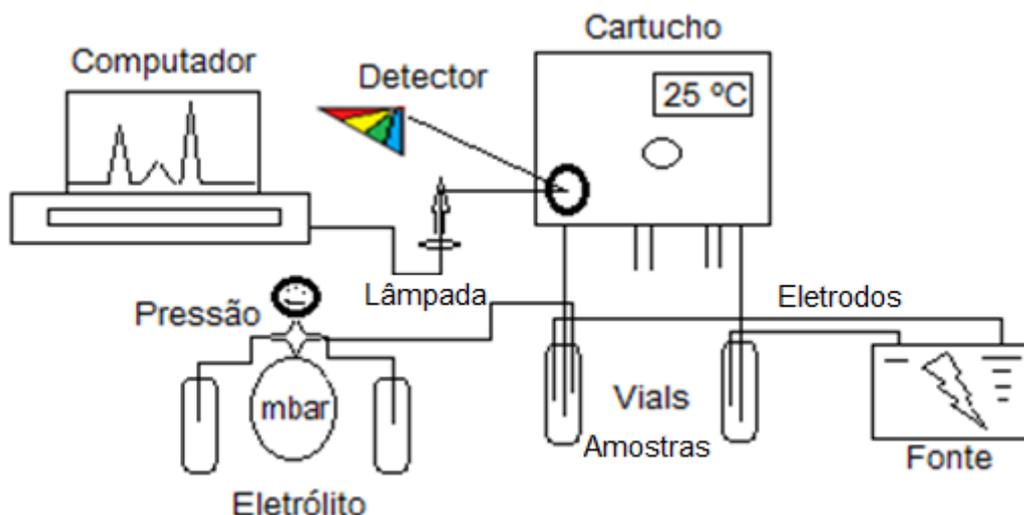
2.1 ELETROFORESE CAPILAR

A eletroforese capilar (EC) é uma técnica de separação que faz o uso da diferença de potencial (ddp) para a separação de compostos neutros, íons solvatados e espécies ionizáveis dentro de uma coluna capilar preenchida com uma solução de eletrólito, normalmente tamponado. Estas colunas, geralmente são de sílica fundida recoberta externamente com um polímero que lhes confere maior resistência e flexibilidade para uso. O fluxo de solução como um todo, ou seja, o fluxo eletroosmótico (FEO) é uma característica da composição química da parede do capilar (grupos silanóis) associado à ddp aplicada nas extremidades do capilar (TAVARES, 1996).

Dentre os modos mais comuns da EC destaca-se a eletroforese capilar de zona (ECZ), cromatografia eletrocinética micelar (CEM), microemulsão, isotacoforese capilar (ITF), focalização isoeletrica capilar (FIE) e eletrocromatografia capilar (ECC). O modo mais utilizado é a ECZ. Contudo, a limitação está, especialmente, na impossibilidade de separação de compostos neutros entre si (TAVARES, 1996), pois todos migram juntamente com o FEO, impossibilitando a separação. As alternativas mais comuns para a separação de substâncias neutras por EC é a CEM, microemulsão e ECC. Entretanto, no presente documento, será dada ênfase a ECC, pois foi o modo de EC desenvolvido pelo GQAQ da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

O equipamento de eletroforese é constituído basicamente por reservatórios para eletrólito e amostra, sistema de detecção, fonte de alta tensão, eletrodos de platina, coluna capilar, compartimento termostaticado e microcomputador para controle, aquisição e análise de dados, conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Equipamento de eletroforese capilar

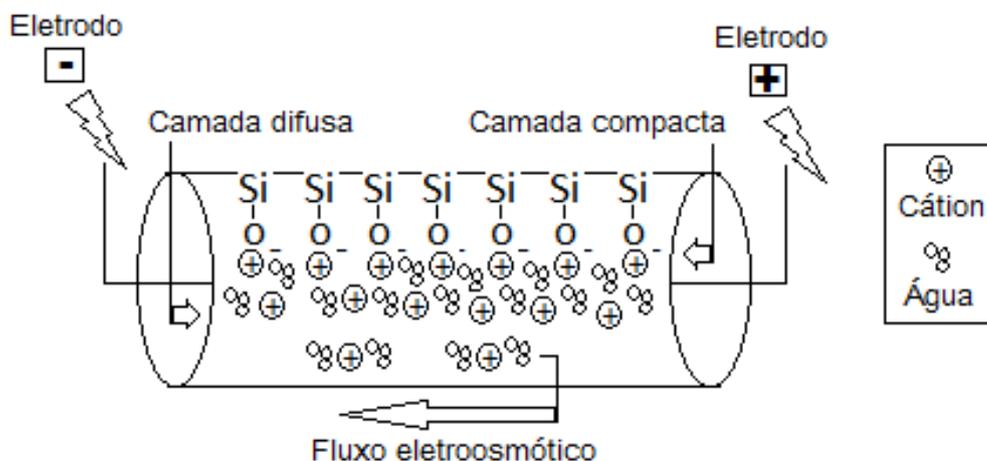


Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

A introdução da amostra no interior do capilar, que contém o eletrólito, geralmente tamponado, ocorre com uma alíquota, por métodos eletrocinéticos ou hidrodinâmico. A fonte de alta tensão é conectada aos eletrodos de platina, que estão imersos nos reservatórios do eletrólito, os quais também ficam imersas as extremidades do capilar preenchido com eletrólito. No momento que o campo elétrico é imposto, cada parte do analito irá migrar de acordo com a razão carga/raio, em uma determinada velocidade constante, o que proporciona a separação.

Essa migração está relacionada também com o chamado FEO, uma característica intrínseca do capilar, que ocorre devido à parede interna do capilar apresentar grupos silanois que quando tratados com hidróxido de sódio geram cargas negativas em sua superfície. Estas cargas atraem os cátions, assim como as moléculas de água que solvatam o eletrólito. Isto gera uma aglomeração de cargas junto à superfície do capilar chamada de camada compacta (Figura 2). Nesta camada, outros íons hidratados também são atraídos, com uma força menor, inversamente proporcional à distância da superfície interna onde estão presentes as cargas negativas da sílica capilar. A camada compacta não tem carga suficiente para neutralizar toda a carga negativa existente na parede do capilar. Portanto, mais cátions hidratados, são atraídos, o que forma uma nova camada, conhecida por camada difusa, adjacente à camada compacta. Na camada difusa, a concentração de carga positiva e as forças de atração também vão diminuindo até ser obtida uma concentração semelhante à do próprio eletrólito.

Figura 2 - Esquema do FEO dentro do capilar



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Quando é aplicada a diferença de potencial nas extremidades do capilar, os cátions solvatados são atraídos em sentido ao cátodo e arrastam todo o leito aquoso, o que faz migrar a FM que contém o analito. O FEO é caracterizado por um perfil de velocidade que minimiza o efeito de alargamento de banda do soluto (FARIA,2006; ALOTHMAN, Z, 2011).

Os detectores utilizados em EC podem ser de vários tipos tais como: absorção molecular, espectrômetro de massas, condutividade e luminescência (BAKER, 1995; SCHMEER, 1995). O detector por arranjo de diodos (DAD), por exemplo, é um sistema no qual vários fotodiodos atuam simultaneamente e continuamente como transdutor de intensidade luminosa/carga elétrica, convertendo sinal luminoso em sinal elétrico (JR. e PASQUINI, 1997), que posteriormente é transformado em sinal analítico. Sendo assim, é possível coletar o espectro de absorção molecular no ultravioleta-visível (UV-Vis), além de monitorar os compostos em um ou mais comprimentos de onda nesta região de 190 a 260 nm. Quando cada analito passa por uma “janela de detecção” ele é detectado e a sua presença é representada como uma banda chamada de pico onde é formado um eletroferograma na EC e eletrocromatogramas na ECC.

2.2 ELETROCROMATOGRAFIA CAPILAR

A eletrocromatografia capilar (ECC) foi o modo de EC abordada na presente tese e pode ser resumida como uma possibilidade analítica de separação cromatográfica que funciona segundo os mesmos parâmetros da EC, pois utiliza o mesmo equipamento. Porém, com o uso da FE se assemelha à técnica de CLAE. Com o intuito de melhorias nas características relevantes da CLAE e EC, esta técnica está em franco desenvolvimento desde o início dos anos 90 (SVEC, 2006).

A ECC pode ser definida como o modo de separação semelhante à EC, mas que envolve o uso de uma coluna capilar contendo uma FE, pela qual percola a FM bombeada por eletroosmose (SVEC, 2006). Esta integração das duas técnicas possibilita, por exemplo, estabelecer condições de suporte para alguns efeitos indesejáveis tanto da CLAE (como a necessidade de altas pressões para bombeamento da FM), quanto da EC (separação de compostos eletricamente neutros) (SIOUFFI, 2003; FARIA, 2006).

A ECC usa tubos com dimensões capilares, normalmente de sílica fundida, por onde percola a FM líquida. O diâmetro interno dos capilares varia entre 75 a 125 μm (d.i.), 310 a 400 μm de diâmetro externo (d.e.) e 40 a 100 cm de comprimento (NEUE, 1997). Estes são revestidos externamente com material polimérico de baixa massa molecular que confere maior flexibilidade e resistência mecânica à sílica (TAVARES, 1996).

Os materiais usados para este fim podem ser os polímeros de poliimida, que garante robustez mecânica, mas não são transparentes à radiação Ultravioleta- UV (VAZ, 2008). Já os revestimentos que usam oligômeros de fluoropolímeros ou de poliacrilatos são transparentes em uma faixa útil de radiação ultravioleta (UV), o que, além de conferir a resistência mecânica, facilita a visualização na formação da solução que dará origem ao polímero, quando inserida no interior do capilar. No caso de colunas monolíticas, no momento do preenchimento, é possível controlar a injeção da solução, bem como observar a formação do monolito e verificar visualmente falhas na estrutura monolítica formada. Outra característica é a possibilidade de fazer a polimerização foto iniciada – na radiação UV desejada - sem a necessidade de remoção do revestimento polimérico (KATO, 2002). Como neste trabalho a FEM é polimerizada *in situ* por iniciador foto polimérico, em câmara de luz UV, o uso de materiais

transparentes é ideal. Também há vantagem de não precisar fazer a janela ótica de detecção que, junto com a inserção do monólito no capilar, é o momento mais crítico da técnica (PONCE, 2011). Quando é feito a remoção de uma parte do revestimento polimérico, o capilar fica frágil e susceptível à quebra neste ponto.

O diâmetro interno do tubo de sílica e a sua elevada área superficial interna, quando comparada com o volume, favorece a dissipação do calor pela passagem de corrente elétrica, que é gerada pelo efeito Joule (RATORE, 2002).

Com isto, torna-se possível o estabelecimento de campos elétricos elevados de 100 a 1000 V/cm o que permite separações com alta eficiência e resolução em curtos intervalos de tempos de análise (BAKER, 1995). Além do diâmetro, outras propriedades importantes do capilar, como alta constante dielétrica, baixa condutividade elétrica e alta condutividade térmica são de extrema importância para o sucesso da separação em EC (MALONEY, 2002).

Com tudo mencionado, ocorre também a contribuição da parede interna do capilar de sílica que, além de contribuir para o fluxo eletroosmótico, apresenta grupos silanóis (SiOH) que podem servir de suporte para a inserção de vários grupos funcionais. Estes grupos são ácidos fracos e alguns se ionizam, tornando a superfície negativamente carregada, onde podem ser formados os grupos silanóis dissociados (SiO⁻). Estes estão diretamente relacionados com o fenômeno da eletroose ou fluxo eletroosmótico, característica intrínseca do capilar importante para a migração da FM (NEUE, 1997). Logo, os grupos silanóis podem também interagir e servir como suporte para ancoragem de várias substâncias com diferentes grupos funcionais, tais como organosilanos: 3-mercaptopropiltrimetóxisilano (SMPTMS) e metacrilatos 3-Metacriolóxiopropiltrimetóxisilano (PTMS) (MAJORS, 2000).

A parte mais importante da ECC é a FE, a qual é responsável pela separação e que fica aderida à sílica – grupos silanóis - da parede interna do capilar. Quando preparada de forma errada pode apresentar baixa eficiência, resolução deficiente e picos assimétricos nas separações (MALONEY, 2002). Vale ressaltar que a inserção da FE no tubo capilar é o momento mais crítico na produção das colunas (PONCE, 2011). Na maioria dos casos ocorrem falhas na formação do monólito o que impede a execução e a repetibilidade da análise (MALONEY, 2002). Com isto é importante uma infusão homogênea, segura e sem entrada de ar no capilar para a formação de um leito polimérico uniforme ou homogêneo o que garante a passagem da corrente elétrica e o transporte do analito para análise.

Existem três tipos principais de FE usadas em ECC. O primeiro tipo é a recheada com material particulado o qual, geralmente, é poroso e esférico (Figura 3). Os tamanhos destas partículas de sílica podem variar de 1,5 a 5 μm de diâmetros e podem ser quimicamente modificadas (DITTMANN, 1996; NORTON, 2003). Apresenta custo elevado, pois depende de filtros para manter a FE segura no capilar, é frágil, a sua vida útil é limitada e, frequentemente, apresenta problemas de repetibilidade na produção. (MALONEY, 2002).

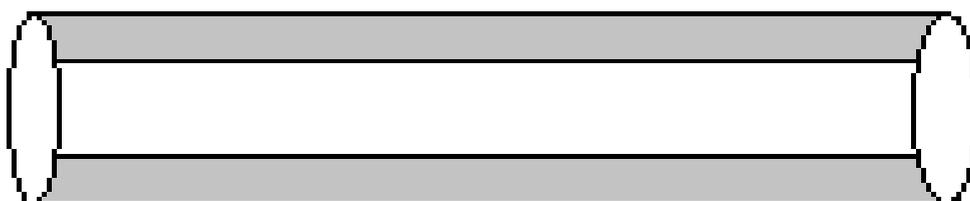
Figura 3 - Fase estacionária recheada



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Um segundo modelo de FE refere-se à tubular aberta (Figura 4), onde o suporte cromatográfico fica aderido à parede do capilar, que forma apenas um revestimento polimérico interno em toda a superfície radial do tubo (CHEN, 2010; XIE, 2001). Esse tipo de FE é produzido a partir da reação da parede do capilar de sílica, dos grupos silanóis, com um reagente funcional. Apresenta fácil preparo, dispensa o uso dos filtros e permite análises mais rápidas. Porém, este tipo de FE tem menor capacidade de separação (HUANG, 2006).

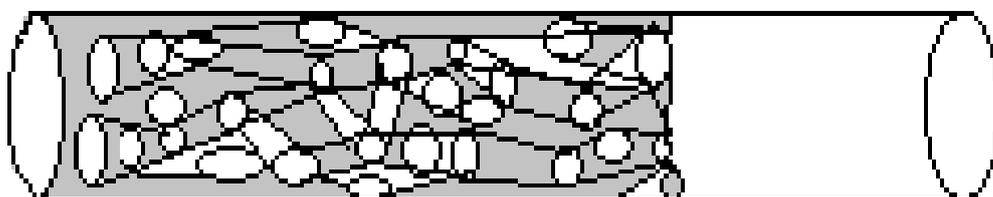
Figura 4 - Fase estacionária tubular aberta



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

A fase estacionária monolítica- FEM é formada por um polímero poroso aderido em toda a superfície interna radial do capilar, conforme apresentado na Figura 5 (FARIA,2006).A vantagem da FEM é que, além de ter propriedades cromatográficas,pode ser preparada *in situ*, permitir a ancoragem de diferentes grupos funcionais (GUSEV *et al*, 1999), não necessitar de filtros, apresentar baixo custo e altas eficiências nas separações. Dependendo dos materiais e equipamentos usados, são de fácil preparo.

Figura 5 -Fase estacionária monolítica- FEM



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

As FEM podem ser divididas em: monolitos de sílica e à base de polímero orgânico. Os de sílica podem ser preparados por alguns métodos diferentes, mais detalhados, complexos e trabalhosos. Esses métodos vão desde a fusão/sinterização, entrecruzamento no interior do capilar e até por processo sol-gel (PETERS, 1999; BEDAIR, 2004). Por outro lado, a FEM preparada à base de polímeros orgânicos pode ser obtida por reação sol-gel seguida da polimerização térmica ou por luz ultravioleta (UV). Esta em termos cromatográficos leva vantagem aos de sílica devido a maior formação de mesoporos, que aumentam a resistência ao fluxo da FM e permitem apenas análises de substâncias muito pequenas.

O material orgânico inserido no capilar pode conter monômeros funcionais - de acordo com a especificidade que se deseja separar - um iniciador e um solvente porogênico que darão respectivamente início e molde aos poros da FEM. A formação dos poros durante a polimerização depende da escolha do solvente porogênico e da temperatura ou tempo exposto à polimerização (SVEC, 2000).

As fases monolíticas poliméricas orgânicas mais empregadas são à base de estireno, acrilamidas e principalmente de metacrilatos, que formam maior variedade de

monômeros funcionais e facilidade de funcionalização após ser polimerizado (MORAVKOVÁ, 2003; SÁFRANY, 2005). A vantagem desse tipo de FEM é que pode apresentar diferentes grupos funcionais e maior facilidade na separação de solutos polares e iônicos. Os monolitos poliméricos orgânicos estão sendo mais utilizados em ECC quando comparados aos monolitos de sílica. Isto é devido à maior facilidade e rapidez no preparo devido ao número possível de materiais disponíveis e por serem mais toleráveis a variações de pH, robustos e com maiores tempos de vida útil (FARIA, 2006; NISCHANG, 2011).

O processo sol-gel foi usado neste trabalho e se baseia no crescimento e na agregação de partículas coloidais para formar o gel de onde se origina o polímero. O termo sol é usado para definir uma suspensão com partículas sólidas ou polímeros do tamanho coloidal, entre 1 a 100nm, em um líquido. A geleificação é a formação do gel e ocorre com o aparecimento de ligações covalentes na estrutura do material (BRINKER, 1990; BERGNA, 2006).

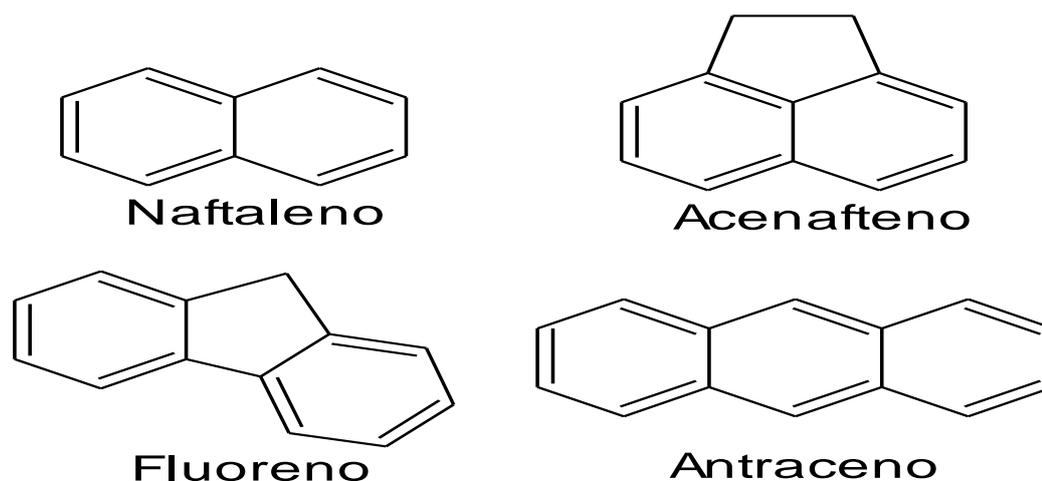
Com isso, a grande facilidade, estabilidade e variedade dos possíveis reagentes poliméricos utilizados no processo de fabricação dos monolitos e o custo relativamente baixo, tornam a ECC uma alternativa viável e bastante atraente no contexto analítico. Além disso, apresenta baixo consumo de solventes, reagentes e padrões, fato herdado também da EC (FARIA, 2006). Porém, é necessário, ter aparatos que permitam fazer a inserção e a funcionalização da FEM de maneira adequada, onde seja possível fazer as análises de maneira repetíveis.

2.3 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) são compostos apolares, neutros, constituídos apenas por carbono e hidrogênio e formados por núcleos aromáticos condensados ou isolados. Têm sido utilizados como analitos testes em FE apolares de ECC, devido à ausência de cargas elétricas e as possíveis interações π - π em sua estrutura. Quando em testes, no momento da corrida eletrocromatográfica, as diferentes massas moleculares e formas estruturais dos HPAs permitem interações diferenciadas com a FEM. Além disto, podem realizar interações com o ouro, quando aderido na coluna. Estas interações são chamadas de π - π staking e formam um empilhamento entre um sistema π rico em elétrons, os aromáticos, e outro sistema pobre

em elétrons π como os metacrilatos e o ouro (PAVEL, 2012; H.-Y, 2010; G. GOTMAR. T, 2000; M, LAMMERHOFER, 2000). As interações garantem variados tempos de retenção, um para cada tipo de estrutura analisada, sendo assim, possível a análise em ECC (N.S. WILSON, 2004; ARMSTRONG, 2001; VITHA, 2006; DABEK-ZLOTORZYNSKA et al., 2008; DING et al., 1997). A Figura 6 apresenta os HPAs que foram utilizados em testes para ECC no presente trabalho.

Figura 6 - HPAs usados como analitos



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

2.4 NANOPARTÍCULAS DE OURO

O ouro pode apresentar boa biocompatibilidade e interação com grupos funcionais variados, tal como o enxofre. Além disto, possui ótimas propriedades eletrônicas, magnéticas, ópticas, resistência à corrosão (BHATTACHARYA, 2008) e podem realizar interações π - π devido a existência de orbital disponível.

A produção das nanopartículas de ouro é relativamente simples, no qual uma banda de superfície plasmon ressonante- SPR simplifica o controle de diversas propriedades, como o tamanho e a facilidade de caracterização. As propriedades químicas e físicas variam de acordo com o tamanho e o tipo de reação (HUANG, 2006).

A síntese das nanopartículas pode ocorrer sob diversas condições e reagentes. Devem ser usados passivantes por se ligarem à superfície das AuNps e impedirem a aglomeração da solução coloidal, além de melhorar a estabilidade, tamanho e forma. Em

alguns casos o redutor também pode desempenhar o papel de passivante; isto normalmente acontece nas rotas de sínteses em meio aquoso. É comum o citrato ser usado como agente redutor e passivante do sal de ouro, o que favorece o processo da nucleação e faz com que aconteça a estabilização do sistema coloidal (REZANK, 2008).

Mas para garantir uma maior estabilização a síntese no meio orgânico é recomendado que o passivante e o redutor sejam substâncias diferentes. Geralmente usa-se um passivante alcanotiol que possa garantir a boa estabilidade das AuNps junto com um redutor como o citrato de sódio (SPERLING, 2008).

Na reação de formação pode ser estudada a variação da forma e do tamanho - os quais são fatores que podem possibilitar a melhoria na sua deposição por dentro dos poros das FEM – que podem ser variados de acordo com o meio reacional experimentado.

Utilizando a síntese em meio aquoso, Karatas e col (2009) obtiveram nanopartículas de ouro com tamanho médio de 13 nm. Esta etapa ocorreu por 15 minutos, sendo o citrato adicionado no momento da ebulição da solução de ácido tetracloroáurico. Em seguida a reação foi resfriada e então pode se adicionar um segundo agente passivante. Trata-se de um procedimento extremamente simples e rápido, semelhante ao que ocorre no trabalho de TURKEVITCH, 1951 e foi realizado nesta tese.

Com isso, devido ao efeito do plasmon, as sínteses podem ser analisadas através da Microscopia Eletrônica de Transmissão- MET, Microscopia Eletrônica de Varredura- MEV e do UV-VIS para a caracterização e otimização das propriedades relacionadas com as características cromatográficas desejáveis.

O uso das AuNps em FEM foi realizado por YE FANG-GUI, 2011; PAVEL, 2012, no qual foi abordado a separação de peptídeos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, porém houve escassez de informações sobre os equipamentos que auxiliaram a funcionalização.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal do trabalho foi à construção de dispositivos (sistema de pressurização a vácuo e mini-forno) para a preparação e funcionalização de fases estacionárias monolíticas com nanopartículas de ouro via processo sol-gel.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Otimizar o processo de preenchimento do capilar via química sol-gel utilizando o DMAP.

Avaliar as colunas preparadas via química sol-gel mediante análise da mistura de padrões de HPA em análises por ECC.

Avaliar as colunas modificadas com nanopartículas de ouro mediante aquecimento por mini-forno “labmade”.

Avaliar as colunas modificadas com nanopartículas de ouro mediante análise de mistura de padrões de HPA por ECC.

4 EXPERIMENTAL

4.1 EQUIPAMENTOS

4.1.1 Equipamento de EC.

Foi utilizado um equipamento de EC localizado nas dependências do Departamento de Química da UFJF. O modelo Agilent-7100 equipado com fonte de alta tensão (± 30 kV), DAD, controle de temperatura no interior do cartucho por passagem de ar forçado e programa para controle, aquisição e tratamento de dados ChemStation 6.0. Encontra-se instalado neste equipamento, um sistema de pressurização externa – gás nitrogênio - que permite a aplicação de altas pressões (de 2 a 12 bar) em capilares durante as corridas ou pré-tratamentos.

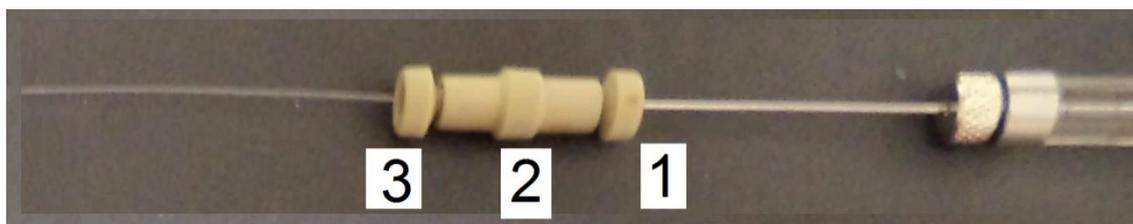
4.1.2 Centrífuga.

Centrífuga da marca MSC-6000 da Biosan localizada nas dependências do Departamento de Química da UFJF para separação forçada da água no preparo do sol.

4.1.3 Seringas e Conexões.

Seringas Gastight de 25 μ L (1702 RNR) e 50 μ L (1705 TLL) da Hamilton Company, Reno, Estados Unidos. Elas são acopladas aos capilares pela agulha, com o auxílio de conexões PEEK (polímero PEEKTM, marca registrada de Victrex plc.) e uniões True-ZDV (P-720). O conector PEEK- 1 foi encaixado na agulha da seringa e a junção True-ZDV- 2 enroscado em uma de suas extremidades. Outra ponta da junção foi enroscada ao segundo conector- 3 que, está acoplado ao capilar de sílica. Por fim, figura 7, as junções 1, 2 e 3 permitiram a união da agulha de metal da seringa com o capilar.

Figura 7. Seringa, agulha seguida por conector PEEK- 1, junção True-ZDV- 2 e o conector final- 3



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

4.1.4 Câmara de fotopolimerização.

A câmara é composta por reator fotoquímico que consiste em uma caixa, feita em madeira “medium density fiberboard” (MDF) de largura transversal de 21,5 cm, altura de 16,0 cm. Contém seis lâmpadas fluorescentes de 46 cm de comprimento (90 W de potência total e 15 W cada) conectadas a três reatores elétricos. As paredes internas da câmara possuem espelhos planos. A porta frontal e a porta superior são espelhadas. Temporizador digital 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. Todas as polimerizações realizadas foram deixadas na câmara expostas a radiação ultravioleta por um tempo de 20 minutos. A câmara, Figura 8, foi construída durante atividades de dissertação de mestrado desenvolvida no GQAQ.

Figura 8 - Câmara de fotopolimerização



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

4.1.5 Espectrofotômetro de UV

Espectrofotômetro modelo UV-1601PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com emissão de duplo feixe simultâneo. Celas de quartzo com caminho ótico de 1,00 cm foram usadas nas leituras em 220 nm.

4.1.6 Análise Térmica Gravimétrica- TGA

A análise térmica gravimétrica foi obtida em aparelho TGA-50 modelo TA 2100 cedida pela Mercedes-Benz Juiz de Fora. A análise foi feita em atmosfera inerte, com cadinho de platina e massa de material para análise em aproximadamente 10 mg. A temperatura de aquecimento foi iniciada em 75 °C até 850 °C, a razão de aquecimento de 10 °C/min até se atingir a temperatura constante, isto é, não haver mais resíduos de massa no cadinho de platina utilizado no equipamento.

4.1.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão- TEM

A análise morfológica das amostras foi realizada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM), “JEOL modelo JEM-2100”, disponível no LNLS-Brasil por cortesia do Professor Wendel de Andrade Alves da UFABC. Para as análises, foi empregada uma tensão de aceleração dos elétrons de 200 kV. A pressão na coluna do TEM foi de $1,5 \times 10^{-5}$ Pa. Antes das medidas, as amostras foram diluídas e dispostas em grades de cobre de 5 mm de diâmetro e espessuras menores que 1000 Å. A quantidade de amostra empregada variou conforme a diluição, sendo utilizados volumes entre 10 e 20 μL .

4.1.8 Análise elementar- CHNS

A análise elementar de Enxofre foi conseguida em um equipamento SC632 Carbon/Sulfur. Versão 1.5x Part Number 200-706; Julho de 2010 LECO corporation minor, cedida pela Votorantim Metais de Juiz de Fora-MG através do responsável laboratorial Professor Marcelo Biolcati. As análises ocorreram depois de passado o branco pelo equipamento e as amostras, aproximadamente de mesma massa foram colocadas em uma barca de cerâmica e levadas à queima.

4.1.9 Microscópio óptico de baixa resolução USB chinês

A marca usada foi a Eletronics produzido na China, valor aproximado de 18 dólares. Foi utilizado para verificação e análise dos capilares com ou sem a FEM, com resolução especificada no equipamento de 25 a 400X.

4.2 REAGENTES E PADRÕES

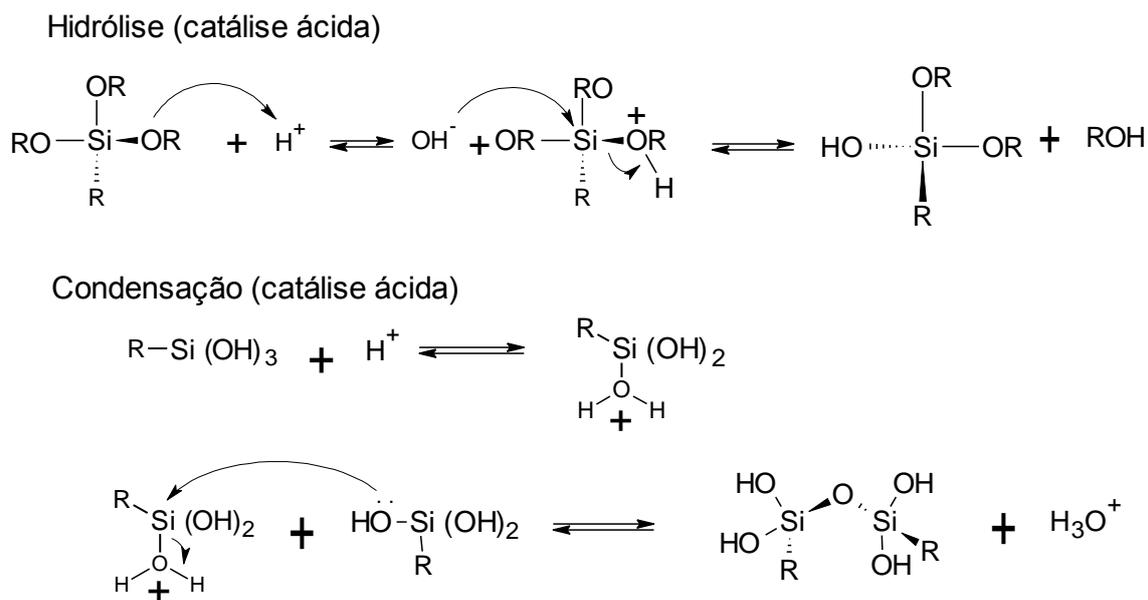
Os reagentes e solventes utilizados no preparo de eletrólito condutor e na preparação das FEM foram os seguintes: metacriloxipropiltrimetoxisilano (PTMS-98%) – Acros Organics (New Jersey, EUA); óxido de bis(2,4,6-trimetilbenzoil)-fenilfosfino (Irgacure 819) – Ciba (São Paulo, Brasil); tolueno (alto grau de pureza) – Beckman (Fullerton, EUA); metanol – Quimex (Tubarão, Brasil); ácido clorídrico, acetato de amônio, tiouréia e acetonitrila (ACN) (PA) - Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Foram analisados os seguintes padrões: naftaleno e acenafeno (99,0%) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA); antraceno (99,0%) e fluoreno (98,0%) (Aldrich, Steinheim, Alemanha); As soluções foram preparadas com água purificada pelo deionizador Millipore (Milli-Q system, Millipore, Bedford, MA, EUA).

5 MÉTODOS

5.1 PRODUÇÃO DE FASES ESTACIONARIAS MONOLITICAS

A primeira etapa para a produção das colunas monolíticas foi o preparo da solução monomérica através do processo sol-gel (SCHUBERT, 2005). O reagente empregado como monômero precursor é o PTMS que foi misturado com HCl (0,1 mol L⁻¹) na razão de 1/4. A mistura foi agitada por 10 minutos em um agitador magnético, com a ocorrência de hidrólise e a condensação do PTMS formando dímeros e trímeros e a liberação de metanol no meio reacional (KATO, 2005), como mostra a Figura 9.

Figura 9. Reações genéricas da catálise ácida



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Em seguida, foi adicionada ao oligômero condensado a mistura do reagente porogênico, (Tolueno) 8 mL - que solubiliza os reagentes e tem o papel de servir como modelador dos mesos e macroporos- e o fotoiniciador, óxido de fenil-bis(2,4,6-trimetilbenzoi)-fosfina (FMBF) 0,55 g previamente misturados durante cinco minutos em um agitador magnético.

O FMBF gera radicais livres ao absorver, em reator de fotopolimerização, radiação em comprimento de onda característico (375 nm). Logo após a mistura dos oligômeros e do porogênico com o fotoiniciador foi submetida à agitação por 30 minutos para a formação do sol. Na Tabela 1 estão apresentadas as quantidades de reagentes usados na preparação do sol (J. OU, 2010; JOCKUSCH 1998).

Tabela 1. Quantidade de reagente no preparo do sol

Componente da mistura	Quantidade
PTMS	1.437 µl
HCl 0,1 mol/l ⁻¹ (mol _{H₂O} / mol _{HCl})	623 µl
Tolueno	8ml
Fotoiniciador	0,556g

O procedimento fez com que ocorresse a formação dos poros e, “*a posteriori*”, o polímero que formou a FEM, depois de inserido no capilar e exposto à luz ultravioleta em uma câmara de fotopolimerização por 20 minutos(VAZ 2008).

Foi visto no trabalho de VAZ et al. (2008), que dependendo da quantidade de solução aquosa de HCl adicionada para a reação de hidrólise (pode haver um pequeno excesso de água) pode aparecer uma segunda fase imiscível, quando são misturadas as soluções monomérica e porogênica. Por isto, foi provocada a aceleração da decantação da solução por meio de centrifuga. Na fase aquosa foi verificado que não ocorre fotopolimerização, devido à baixa solubilidade dos componentes da reação nesta fase. Portanto, somente a fase orgânica deve ser aproveitada, ou seja, ser inserida no capilar. Todos os frascos utilizados foram do tipo âmbar e revestidos com papel alumínio para evitar a fotopolimerização precoce do sol.

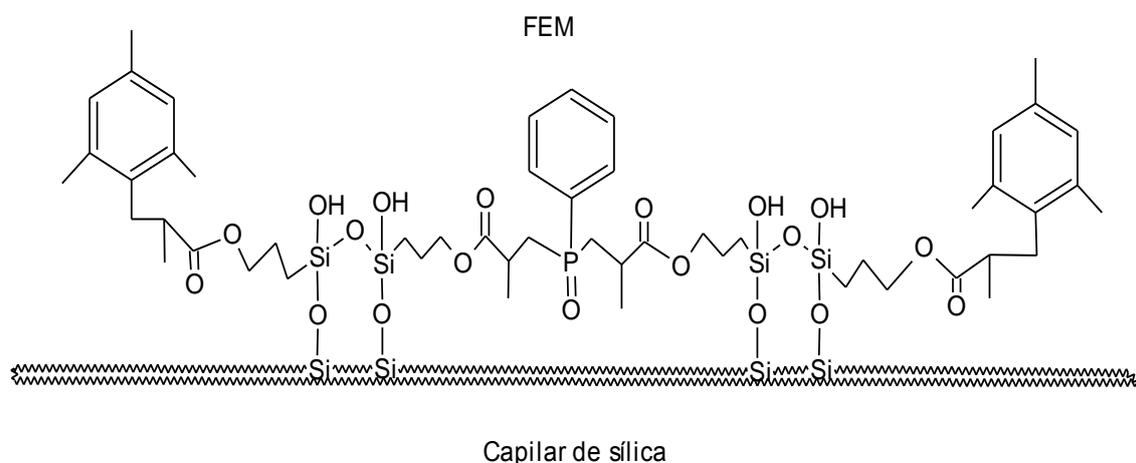
Depois de pronto, o polímero formado, provavelmente apresentará características apolares, devido à estrutura da FEM, isto é, fase reversa na eletrocromatografia capilar eficiente na separação dos HPAs.

Através da representação (*chemic station*), conforme a modelagem estrutural proposta do monolito finalizado, pode-se perceber que a FEM foi formada por muitos hidrocarbonetos e compostos aromáticos oriundos do fotoiniciador FMBF. Com isto serão predominantes as características apolares, ou seja de fase reversa na

cromatografia. Porém, alguns autores atribuem ao monólito PTMS como FEM polar (KATO, 2001; apud PONCE, 2011).

Realmente os oligômeros do PTMS apresentam características polares, mas com a adição do iniciador Irgacure, os anéis aromáticos que são ligados a estrutura do monólito garantem a hidrofobicidade da FE.

Figura 10 - Polímero PTMS que forma a FEM



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Ao fazer um diagnóstico na possível estrutura do monólito da Figura 10, pode-se observar que os anéis aromáticos são capazes de conferir além da apolaridade as interações π - π com os HPAs. Não foi possível obter o RMN em fase sólida de carbono e hidrogênio para essa estrutura (Figura 10), mas de acordo com a representação estrutural, resumida, representada no trabalho de VAZ, (2008) pode-se prever a provável estrutura.

5.2 PRÉ-TRATAMENTO DO CAPILAR

A finalidade do pré-tratamento da superfície interna do capilar de sílica foi aumentar a concentração de grupos silanóis em sua parede interna, o que representa o principal sítio de ligações e permite que a FEM criada esteja mais fortemente ligada ao

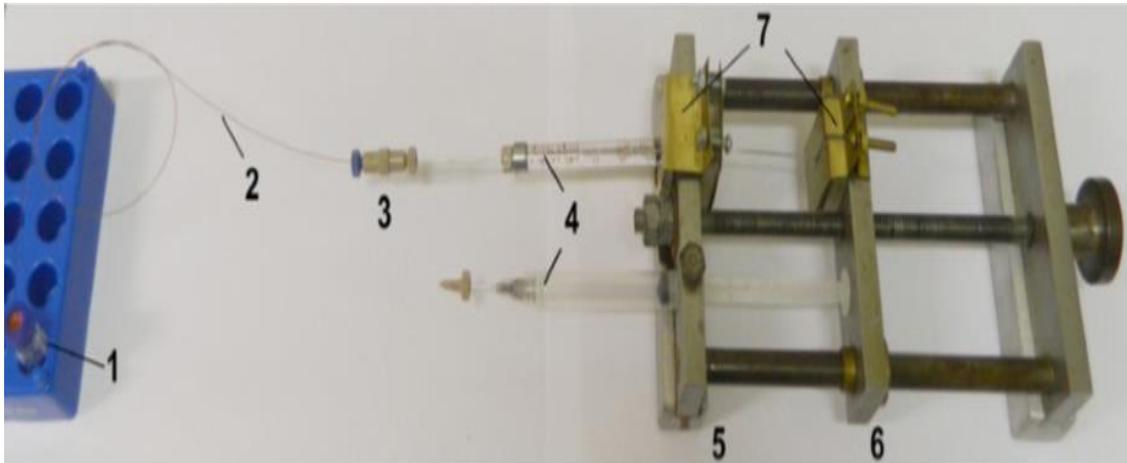
suporte. O tratamento empregado seguiu a metodologia apresentada no trabalho de VAZ (2008) e consistiu em passagem de fluxo de hidróxido de sódio- (NaOH) 0,1 mol L⁻¹ para ativação da sílica (-Si-O-Si-). Em seguida, por HCl 0,12 mol.L⁻¹ para remoção de excesso de NaOH, onde íons Na⁺ são substituídos por íons H⁺, formando-se grupos (Si-O-H) chamados de grupos silanóis, por um período de 30 minutos cada um. Por fim, foram executados limpeza, *flush* com metanol- (MeOH) e *flush* com passagem de ar por mais 30 minutos para limpeza e retirada de água do material, seguidos por secagem do material com ar pressurizado através do Dispositivo manual a alta pressurização- DMPA, por um tempo igual a 30 minutos. Estas etapas garantem que a sílica não armazene água e permite que a FEM fique aderida a parede do tubo capilar e no momento da corrida eletrocromatográfica não se desprenda. Foi visto em trabalho anterior (VAZ, 2007) que, sem este pré-tratamento, as FEM preparadas são expelidas do capilar sob aplicação de pressões usuais de trabalho, tanto através do DMAP, quanto pelo equipamento de EC. Os capilares depois de tratados foram cortados com comprimento de 40 cm sendo que a FEM, quando inserida no capilar, ocupou 8 cm.

5.3 PREENCHIMENTO DA COLUNA CAPILAR

Com o auxílio do dispositivo manual a alta pressão- DMAP a vácuo foi inserida a solução monomérica denominada de sol. O funcionamento do dispositivo otimizado garantiu a homogeneidade ou uniformidade da FEM e foi realizado conforme descrito abaixo:

A injeção do sol pode ser feita por sucção do líquido contido em seu recipiente diretamente para o tubo capilar proporcionada pelo DMAP a vácuo (Figura 11).

Figura 11 - DMAP (otimizado) e o sentido do seu funcionamento para inserção a vácuo. 1) reservatório de sol, 2) capilar, 3) conectores para o capilar e a agulha, 4) seringas, 5) plataforma fixa, 6) plataforma móvel, 7) componentes auxiliares para injeção a vácuo



Fonte: (RIBEIRO, 2014).

O processo pode ser descrito em etapas: A) uma extremidade do capilar é conectada hermeticamente à agulha da seringa, por meio dos conectores apropriados- 3; B) a outra extremidade é imersa no sol, contido em um recipiente independente do sistema- 1; C) a seringa- 4 é afixada na plataforma fixa- 5 e D) o seu êmbolo é preso na plataforma móvel- 6 por meio dos componentes auxiliares- 7. Inicialmente, o êmbolo deve estar totalmente pressionado e as plataformas 5 e 6 próximas. A partir da rotação do parafuso no sentido horário, a plataforma 6 se afasta da plataforma 5, puxando o êmbolo consigo. Este movimento cria um vácuo no interior do capilar permitindo a sucção do líquido. A seguir, o parafuso é girado lentamente até que o líquido alcance o comprimento de capilar desejado (RIBEIRO, 2014). Isto poderia ser feito também por capilaridade, mas dependendo da viscosidade do sol e dos movimentos de balanço no manuseio do capilar, no momento do preenchimento, ocorrências de não inserção do sol no tubo ou falhas na estrutura monolítica seriam comuns.

Por fim, a coluna foi levada a foto-polimerização na câmara de UV por 20 minutos para a formação do polímero *in situ*.

5.4 PÓS TRATAMENTO DO CAPILAR DE SÍLICA

O pós tratamento serve para remover os resíduos da polimerização, assim como lavar os poros da FEM e consiste em fazer percolar por cinco minutos metanol com o auxílio do DMAP. Depois desta etapa a coluna se encontra propícia a ser condicionada e testada no equipamento de EC.

5.5 PREPARO DOS POLIHIDROCARBONETOS AROMÁTICOS- HPAS

O preparo da solução de mistura de HPAs, ou seja, naftaleno, acenafteno, fluoreno e fenantreno é mostrado na Tabela 1, onde foram diluídos na concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ cada um, em metanol. A tioureia, usada como marcador de fluxo, fez parte da mistura dos HPAs, e sendo diluída em metanol em concentração diferente ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. O pico do marcador de fluxo, antes analisado, apresentou-se bem definido e intenso nas corridas eletrocromatográficas não precisando de elevadas concentrações para ser visualizado.

Tabela 2. Diiuição dos HPAs usados nas análises em ECC

HPAs	Quantidades(mmol L^{-1})
Tioureia	0,1
Naftaleno	1,0
Acenafteno	1,0
Fluoreno	1,0
Antraceno	1,0

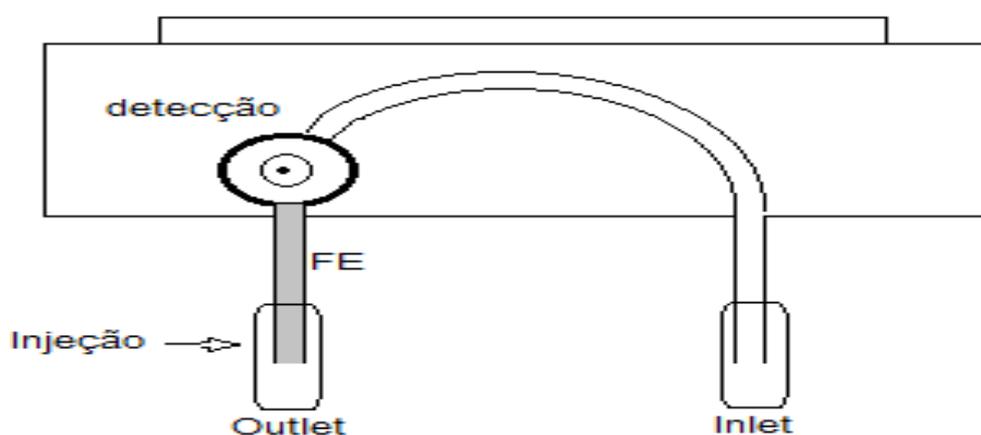
5.6 PREPARO DA FASE MÓVEL- FM

A FM foi preparada com a mistura de acetato de amônio $16,7 \text{ mmol L}^{-1}$ (60%) que funcionou como tampão com o pH em torno de 7 e acetonitrila (40%) como solvente.

5.7 CONDICIONAMENTO DO CAPILAR PREENCHIDO COM A FEM

Esta etapa é de extrema importância para promover a corrente elétrica no ato da corrida eletrocromatográfica. Faz-se a passagem do sistema de eletrólito, constituído de um tampão e solvente, por no mínimo de cinco minutos. Esse condicionamento pode ser realizado com o equipamento de EC ou com o DMAP. Vale destacar que todas as injeções realizadas neste trabalho – seja nos condicionamentos e nas análises - foram realizadas do outlet para o inlet conforme mostra a figura 12.

Figura 12 - Cartucho de EC e modo de injeção outlet em direção ao inlet



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

O tempo de execução depende da necessidade de obtenção da corrente no momento da análise o que pode chegar a tempos indeterminados dependendo da estabilização da corrente elétrica. Neste trabalho foi sempre iniciado o condicionamento com 5 minutos e aumentado gradativamente mediante a não obtenção da corrente desejada.

Por oportuno, lembra-se que foi mantido um método comum, em todos os condicionamentos e corridas eletrocromatográficas no equipamento de EC.

Tabela 3. Condições de funcionamento do equipamento de EC

Variável	Condição
Temperatura do cartucho	25 °C
Voltagem	-20 KV
Pressão de injeção	25 mbar
Tempo de injeção	5 s
Detecção	220 nm
Flush	5 bar
Amperagem	300 μ A
UV-VIS	190-400 nm
Resposta	> 0.10 min
Potência	6,0 W
Pressão externa	5,0 bar

5.8 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO

A síntese das AuNps nesse trabalho se deu conforme a metodologia de TURKEVITCH, (1951); FRENS, (1973), na qual ocorreu a dissolução em água deionizada de $2,5 \times 10^{-6}$ mol do ácido tetracloroaurico trihidratado $3\text{H}_2\text{O} [\text{HAuCl}_4]$ em um balão de 10 mL. A solução de coloração amarela foi agitada e aquecida até a ebulição. Em seguida, adicionou-se 0,75 mL de citrato de sódio $-\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7,5\text{mol L}^{-1}$, que agiu como estabilizante e redutor do ouro, fez com que o Au^{+3} fosse reduzido a átomos neutros Au^0 . Logo após o resfriamento e a mudança da coloração de amarelo para violeta, o que indica o fim da reação, foi adicionado $2,5 \mu\text{L}^{-1}$ do passivante quitosana $0,001\text{g L}^{-1}$.

5.9 PRÉ-FUNCIONALIZAÇÃO

A reação de pré-funcionalização foi repetida apartir do trabalho de YE FANG-GUI, (2011) no qual resumidamente foi mostrado que ocorre a diluição do reagente sililante- MPTMS em tolueno 10%:90% (V/V), em seguida, foi feita a passagem com aquecimento a 110°C por dentro da FEM contida no capilar por uma hora. Nessa etapa,

foi utilizado um aparato de aquecimento chamado de mini-forno. Este acopla a FEM e insere calor de forma homogênea, em toda a superfície radial do capilar, para a adesão do reagente sililante na parede do monolito. Depois de percolar o MPTMS com o auxílio do mini-forno, a FEM foi deixada a temperatura ambiente para ser resfriada.

5.10 FUNCIONALIZAÇÃO DAS FEM

A etapa da funcionalização também seguiu a referência YE FANG-GUI, (2011), onde foi percolado a solução preparada de AuNps por uma hora, à temperatura ambiente com o auxílio do DMAP, entre os poros da FEM pré-funcionalizada.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 CONSTRUÇÃO DO DISPOSITIVO À ALTA PRESSURIZAÇÃO- DMAP

Durante as tarefas realizadas, foi possível notar que a inserção do sol no tubo capilar é o momento mais crítico de todo o processo. Tal fato fundamenta-se não apenas nas observações oriundas deste trabalho, mas também em pesquisas de autores que produziram FEM em capilares de sílica anteriormente (PONCE, 2011). É necessário que o monólito formado apresente homogeneidade em sua estrutura polimérica a fim de evitar a formação de falhas que causam bolhas as quais acarretam problemas no processo de separação em ECC (COLLINS, 1993). A Figura 13 mostra imagens de FEM com a estrutura monolítica comprometida com falhas.

Figura 13 - Falhas causadas na FEM devido ao preenchimento irregular



Fonte: Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Os instrumentos para a introdução de soluções no interior do capilar, não são comumente descritos na literatura. Normalmente é relatado o uso de bombas de alta pressão. Existem vários modelos disponíveis comerciais, os quais são bombas de infusão digitais. De um modo geral, as bombas apresentam custo elevado, necessitam de quantidades expressivas de reagentes e solventes, e demandam muitos cuidados para o preenchimento de forma controlada do monólito em apenas uma seção do tubo capilar.

Diante da necessidade de um dispositivo manual de fácil manuseio, que inserisse a fase monolítica no capilar, foram projetados, construídos e otimizados no GQAQ dois

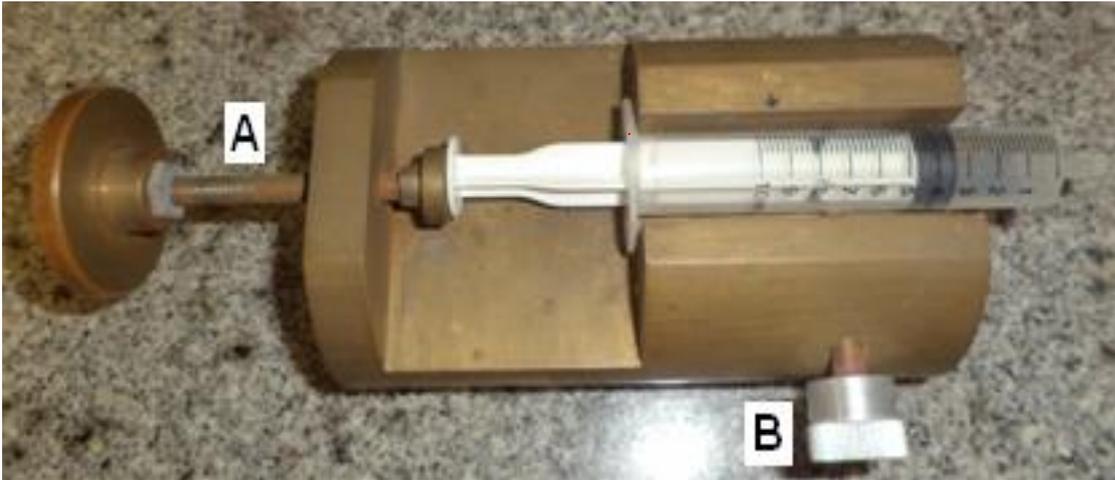
aparatos denominados como Dispositivos Manuais a Alta Pressurização (DMAP). Estes proporcionam a introdução do sol, assim como auxiliam os processos de pré-tratamento da superfície interna da coluna capilar e de pós-tratamento da FEM recém-formada. O DMAP apresenta baixo custo, utiliza pequeno volume de líquido (soluções, solventes ou sol) e possibilita a injeção de forma controlada e precisa em um dado comprimento de coluna capilar (RIBEIRO, 2014). Além disto, com o uso do DMAP é possível a introdução de diferentes tipos de soluções, com viscosidades diversas, o que pode permitir a produção e a inserção de diferentes FEM.

Esse dispositivo também torna o processo “ecologicamente correto”, pois usam menos reagente e solvente, no preparo das colunas monolíticas. Ademais, o dispositivo é de simples manipulação, homogeniza ou uniformiza a FEM em todo leito polimérico e preenche de maneira ímpar o capilar (VAZ, 2011).

O primeiro dispositivo manual DMAP I criado em trabalho de mestrado e doutorado no GQAQ é constituído por um suporte rígido de ferro onde fica acoplada uma seringa previamente preenchida com o sol, como mostra a Figura 14. Este dispositivo apresenta dois parafusos com roscas, sendo o primeiro representado pela letra A (Figura 14), com um suporte circular que gira em direção ao êmbolo, expelindo a solução que passa através da agulha, das conexões e segue para o interior do capilar. O segundo parafuso mostrado também na Figura 14, letra B, serve para segurar o sistema de injeção que pode ser dotado de diferentes tipos de seringas.

Cabe ressaltar que, o DMAP I foi projetado para seringas grandes (acima de 5 mL). Com isso, mesmo os pequenos avanços promovem grandes liberações de volume para o capilar, dificultando o controle da injeção (VAZ, 2008).

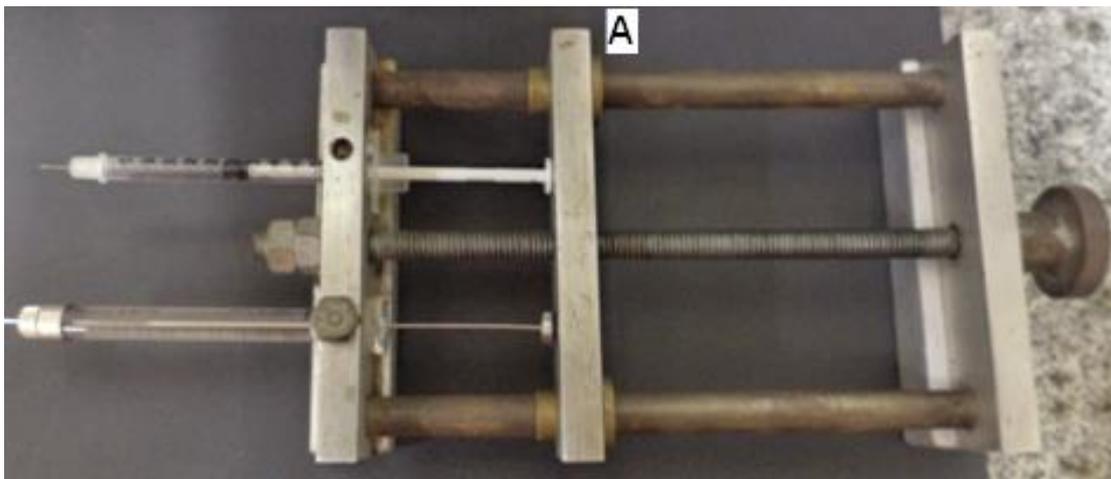
Figura 14 - DMAP I – Protótipo I desenvolvido no GQAQ.



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Após a criação do DMAP I, com o objetivo de miniaturizar o volume liberado, um segundo modelo do dispositivo, chamado de DMAP II (Figura 15), foi projetado e construído no mesmo trabalho anterior (VAZ, 2008). Este protótipo foi construído com um material mais leve do que o primeiro e possui duas entradas para seringas, ao invés de uma conforme no DMAP I, o que possibilita o preenchimento de dois capilares concomitantemente. Também foi mudada a forma como o parafuso empurra o êmbolo. Uma plataforma móvel (Figura 15- A) é que avança e/ou recua na direção do percurso do êmbolo, enquanto o parafuso é girado expelindo o sol, através da seringa, agulha e dos conectores, para o interior do capilar.

Figura 15 - DMAP II- Capacidade de operar duas seringas. Plataforma móvel-(A) com a possibilidade de avanço no funcionamento



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Para a confecção do segundo DMAP, foram utilizadas ligas metálicas de aço carbono. Todos os componentes estruturais foram planejados e projetados no Autodesk Inventor software. A etapa de usinagem, assim como todo o projeto realizou-se na oficina mecânica do departamento de Física na Universidade Federal de Juiz de Fora-MG.

Ao comparar os dois primeiros dispositivos DMAPs I e II, o segundo é de mais fácil manuseio por ser mais leve e os dois orifícios para seringas permitirem um aproveitamento maior no tempo de trabalho. Também é possível um aproveitamento maior do sistema de rotação do parafuso de avanço, uma volta, com o uso da seringa Gastight é capaz de preencher um metro do capilar de 100 μm de diâmetro interno.

De acordo com o trabalho escrito por VAZ, (2011), é mostrado a quantidade (44,5 mg ou 44,5 μl) de líquido expelido quando dado o giro de uma volta no parafuso do DMAP II que insere o sol no tubo capilar. Esta quantidade foi capaz de preencher um capilar de aproximadamente 1 metro com o sol. Baseando-se nisto e posto em prática observou-se que, um toque, correspondente a um leve e curto giro no parafuso do DMAP II, com a seringa gastihigt, pode preencher mais do que 8 cm de capilar. A quantidade pequena que é usada para uma FE, não só minimiza o custo da preparação, como também é ecologicamente correto, pois reduz a produção de resíduos para descarte.

Embora as FEM inseridas com os dois modelos do DMAP tenham obtido resultados relativamente satisfatórios na separação de HPAs no GQAQ (VAZ, 2008;

VAZ *et al.*, 2012), algumas condições de contorno ainda deveriam ser implementadas. Um dos problemas que se observou foi a deteriorização dos conectores, agulhas, encaixes e seringas devido ao contato com o sol, o que resultava na fotopolimerização no interior destas peças mesmo com a presença de iluminação natural ou artificial no laboratório.

Diante do exposto, realizou-se limpeza com solução de HCl de 0,1 a 1 mol L⁻¹, em lavagens repetidas, o que gerava um aumento no tempo total do processo de produção das FEM. Contudo, algumas vezes, não se conseguia a limpeza das peças com sucesso, levando muitas a um dano irreversível. Outro problema era a formação de falhas na FEM, na maioria das vezes causadas por acúmulo de ar na agulha, durante o experimento do sol para dentro da seringa. Quando o sol é inserido no capilar, esse ar, que pode estar acumulado nas seringas ou nas agulhas, é expelido para o interior do monólito. Quando isso ocorre, as falhas formadas no monólito prejudicam as corridas eletrocromatográficas devido à queda de corrente elétrica ao longo do capilar - provocada por bolhas no local onde ocorrem as falhas - no momento das análises.

Vale destacar que, mesmo depois do capilar lavado, a sua estrutura não ficava em boas condições para o reuso e as falhas persistiam. Isso fazia com que o tempo de trabalho fosse aumentado em no mínimo 150 minutos. Este problema também afetava o sistema de conexões capilar-seringa e estes tinham de ser limpos e secos para serem usados novamente.

Na Tabela 4 são mostradas as etapas de produção das FEM e a duração do trabalho realizado na sua produção. O tempo apresentado foi alcançado depois de rotineiros erros, no mesmo problema, sendo que no aprendizado foram gastos muito mais tempo nas execuções dessas mesmas tarefas.

Tabela 4- Etapas de Produção da FEM

Etapas	Tempo (min)
Preparo do sol	50
Pré-tratamento do capilar	120
Inserção	5
Polimerização	20
Pós-tratamento	5
Tempo total de trabalho	200

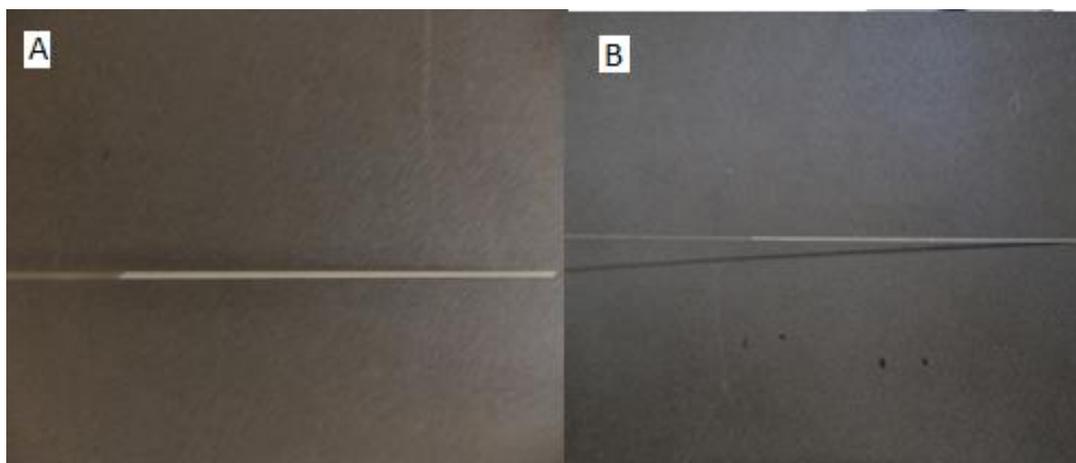
Os problemas que ocorriam com as FEMs no preenchimento do capilar, dependendo do caso, aumentariam no mínimo duas horas de trabalho, quando não era perdido algum aparato material conforme antes mencionado. Na tabela 5, pode ser visto o tempo requerido para cada etapa. Logo, a cada conserto, um tempo mínimo era preciso ser adicionado ao tempo total de trabalho.

Tabela 5- Tempo de reparo dos problemas na inserção da FEM

Etapas	Tempo(min)
Inserção com problemas de polimerização precoce na agulha	120
Inserção com problemas de polimerização precoce na seringa	Irreparável
Inserção com problemas de polimerização precoce nos conectores	120
Inserção com problemas de falhas no capilar	150

Pode- se observar ainda, nesses mesmos testes de preenchimento do capilar com a solução monomérica, que todas as vezes que se chegou ao final de um trabalho sem intercorrências, ainda assim o rendimento das FEM com aspectos homogêneos eram muito baixos. Conseguia-se, em média, aproximadamente 20% apenas de colunas com aspectos visuais homogêneos (Figura 16) prontas para análise em ECC.

Figura 16 - A e B- Esporádicas FEM com aspecto homogêneo produzida com o DMAP II



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Nas demais FEM era possível observar falhas na estrutura polimérica por dentro do capilar. Cabe destacar que a visualização das falhas só foi possível graças à escolha de capilares que usavam revestimento polimérico com fluoropolímero em sua estrutura. Abaixo na Figura 17, algumas imagens captadas utilizando câmera digital- USB com baixa resolução, nas quais é possível notar as falhas nas estruturas monolíticas.

Figura 17 - FEM produzidas com falhas visíveis em suas estruturas

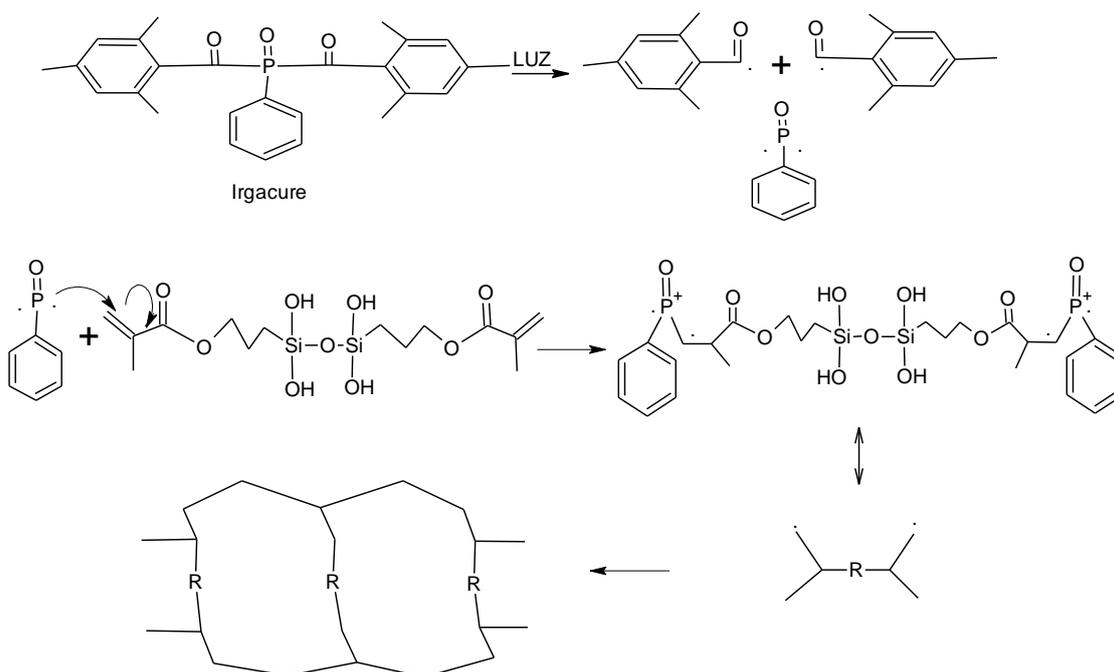


Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Depois do sol inserido no capilar, foi formada a FEM *in situ* através da radiação absorvida por 20 minutos em uma câmara apropriada de luz UV. Esta é formada por uma caixa de madeira, um reator fotoquímico, seis lâmpadas negras de 90 W de potência com emissão entre 350 e 400 nm e espelhos planos nas paredes internas da câmara, os quais favorecem uma distribuição de luz mais homogênea, (Figura, 8), (VAZ, 2008 e 2011).

Nesse momento da fotopolimerização, o fotoiniciador absorve a radiação e há formação de radicais livres que se adicionam à dupla ligação dos grupos metacrilato do precursor. Com esta adição, novos radicais são formados e os dímeros e trímeros se adicionam mutuamente, formando o polímero dentro do capilar (VAZ, 2008; BERNABÉ-ZAFÓN et al., 2010), conforme mostrado na Figura 18.

Figura 18 - Reação resumida do fotoiniciador com o oligômero condensado adaptado de (KATO, 2001).



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Segundo KATO, 2001, esse precursor polimérico apresenta características polares. Mas, a grande quantidade de hidrocarbonetos e dos anéis aromáticos em sua estrutura – depois da reação com o fotoiniciador - pode diminuir a polaridade da FEM. Vale destacar que, neste trabalho, o monólito formado quando posto em análise no equipamento de EC, no modo de funcionamento ECC, apresentou característica de fase reversa, ou seja, FEM apolar. Em várias corridas eletrocromatográficas realizadas neste estudo, em análises de HPAs apolares, misturados com o marcador de fluxo tiourea com características polares, a apolaridade da FEM foi constatada, através dos eletrocromatogramas, ou seja, o marcador de fluxo percolou pela FEM primeiro que os HPAs. Isto se deve ao fato de que a tiourea polar interage pouco com a FEM apolar e os HPAs apolares ficam mais retidos na FEM também apolar. Porém, há de ser destacado que os anéis aromáticos dos HPAs podem realizar interações do tipo π - π com os elétrons disponíveis, presentes igualmente na FEM (KARENGA. S, 2010).

A última etapa realizada na preparação da coluna foi o pós-tratamento, no qual fiz-se a passagem de metanol, por 5 minutos, para eliminação do solvente retido e restos de fotoiniciador. Antes das corridas eletrocromatográficas, foram realizados condicionamentos por no mínimo cinco minutos com o sistema de eletrólito

conveniente. A acetonitrila e acetato de amônio são utilizados neste trabalho como eletrólito para gerar o fluxo eletroosmótico e corrente elétrica. Esta etapa também foi realizada com o auxílio do DMAP.

A Figura 19 mostra a fotografia de uma FEM pronta, depois de ser preenchida com o DMAP II, onde pode ser vista a homogeneidade não comum da coluna em comparação com um capilar sem o preenchimento.

Figura 19 - Fotografia entre a FEM no capilar e a foto do capilar sem o monólito



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Primeiramente, as FEM preparadas com o uso do DMAP II não apresentavam corrente, desde o início até o final das corridas. Provavelmente este fato ocorria por entupimento do fluxo da FM gerada pelos fechamentos de poros no instante da polimerização ou outros problemas como: falta de condicionamentos mais longos, quebra do capilar, entupimento das FEM no momento do condicionamento, bolhas de ar contida na estrutura do monólito devido às falhas da superfície e/ou a decomposição do eletrólito de corrida.

Em algumas análises foram observadas variações captadas na corrente e no decorrer das corridas, por possível passagem momentânea de eletricidade por dentro do tubo capilar. Isto se repetia até a interrupção da análise e aconteceu em vários testes realizados em ECC.

Essa variação também ocorreu nas estruturas monolíticas com pequenas ou poucas falhas nas estruturas poliméricas e poderia indicar uma melhoria, pois ocorreu

quando era usado um tempo maior de condicionamento para uma coluna outrora sem apresentar corrente. Isto pode ser indício de expelimento de uma parte da bolha de ar, concentrada no interior das falhas na FEM no momento do condicionamento.

Quando isso acontecia, era uma ocorrência tida como um resultado, por saber que com pequenas falhas, as FEM permitiam um pouco de passagem de corrente quando se aumentava o tempo de condicionamento. Foram estudadas diferentes possibilidades, do que poderia levar a ausência de corrente nas análises e os possíveis interferentes foram analisados.

No estudo relacionado a esses interferentes, foram realizados tempos maiores para o condicionamento, que variou de 5 minutos a 24 horas. Também, foram produzidas filmagens na superfície da FEM e do revestimento capilar, o que pôde contribuir para verificação de falhas na estrutura monolítica e na superfície do plastificante que envolve o tubo para prevenir quebras. Verificou-se também que as pontas da sílica capilar poderiam – no momento das corridas - quebrar e entupir as colunas. Mesmo com os testes realizados, maior tempo de condicionamento e filmagens da superfície capilar com o microscópio USB - ainda assim, não foi possível obter corrente elétrica estável no EC através de várias análises, já que as falhas na FEM eram muitas e persistiam.

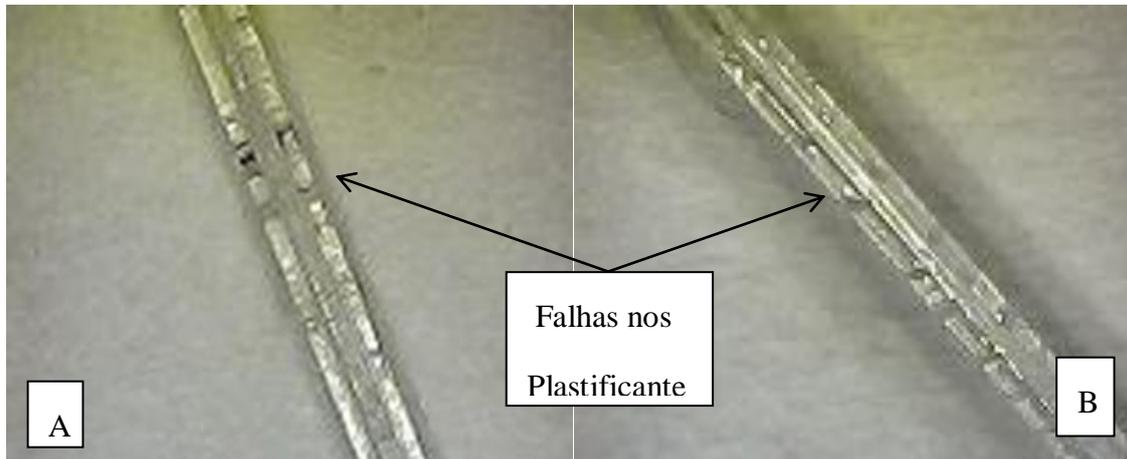
Em algumas vezes, a corrente ficava com valores aceitáveis, mas não permanecia estável por toda a corrida eletrocromatográfica. O comportamento variado com a presença da corrente elétrica pode ter sido em função de quebra do capilar no meio da corrida.

As quebras dos tubos capilares foram constantes, por se tratar de finos tubos de sílica, com diâmetros em torno de 100 micrometros. Os plastificantes que envolvem o capilar aumentam a resistência do material, mas não impedem a fragilidade e a quebra, mesmo quando manipuladas com cuidado ou após algum tempo rotineiro de uso.

Depois de várias quebras dos capilares que acoplavam as colunas, começou-se a visualizar minuciosamente - com o uso do microscópio USB digital de baixa resolução - toda a extensão do capilar. Com isto foi possível verificar algumas falhas não comuns nos revestimentos das estruturas do capilar de sílica, mas, apenas dois capilares se mostraram com os plastificantes deformados em 25 vistoriados. As deformações apareceram em alguns capilares revestidos com plastificantes de fluoro polímero e podem ser derivados de problemas na sua fabricação. Foi verificado no plastificante que recobre e protege a sílica uma fina e rasa fratura e esta poderia ser a causa de algumas

quebras, conforme pode ser visto na Figura 20 onde são mostrados os dois revestimentos não conformais que podem diminuir a resistência e provocar a fratura do capilar.

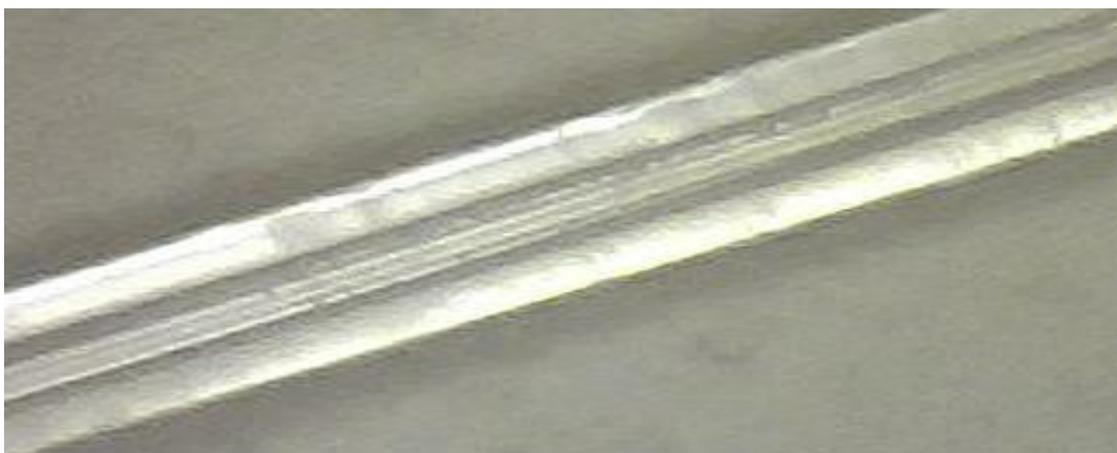
Figura 20 - Possíveis avarias no revestimento da FEM Figuras A e B (LEE, 2013).



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Na fotografia da Figura 20- A e B é visto que o oligômero tido como plastificante do capilar de sílica, apresentou falhas, rachaduras ou cortes na superfície do polímero. Isto pode deixar o capilar quebradiço no ponto onde ocorrem as falhas. O aparecimento dessa anormalidade não foi encontrado com frequência e facilidade, visto que fora preciso visualizar toda a extensão, fazendo o giro do tubo com muita sutileza, para ser observado toda a parte radial do material plastificante. Abaixo, Figura 21, segue uma micrografia onde é possível observar o revestimento de uma FEM sem avaria.

Figura 21 - FEM com revestimento sem avaria



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

O revestimento do capilar mostrado na Figura 21 - do plastificante que reveste o capilar – não apresenta falhas, o que garante uma maior segurança ao se trabalhar com os tubos de sílica muito frágeis.

Então se recomenda a verificação do material de revestimento quando se trabalha com capilares de sílica revestidos com plastificantes.

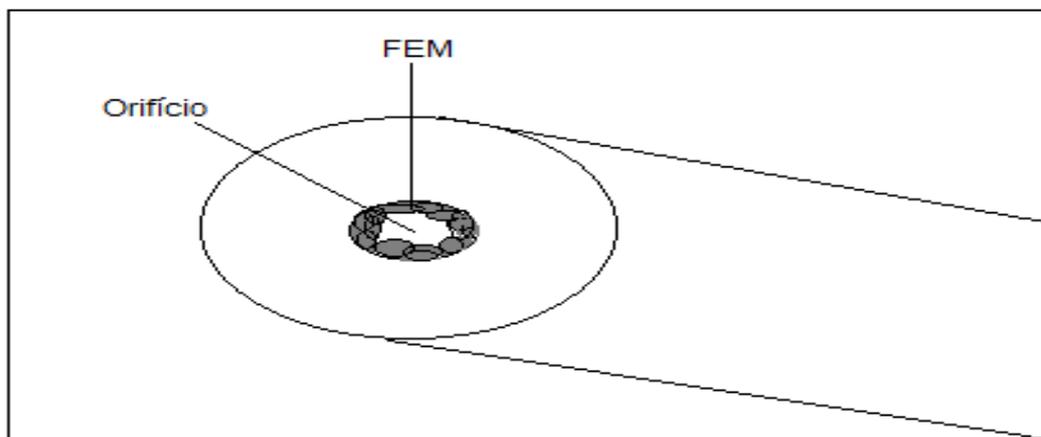
Era impossível fazer análise em ECC, onde a migração da FM acontece por diferença de potencial, sem ter a passagem da eletricidade através do meio em que ocorre a separação. Uma corrente viável tem que ser estável durante toda a análise. Para isto o leito polimérico – por onde percola a FM - deve apresentar homogeneidade ou uniformidade na FEM.

As FEM com o leito polimérico homogêneo podem proporcionar uma corrida eletrocromatográfica dentro dos parâmetros essenciais para análise em ECC. Quando os leitos das FEM não se mostravam homogêneos, nas corridas eletrocromatográficas, as quedas e ausências de correntes apareciam com frequência como resultados nos eletrocromatogramas, com ruídos, das separações também envolvendo HPAs.

Em algumas análises, raramente, as colunas preparadas não continham falhas em suas estruturas. Com isso, a obtenção de corrente elétrica possibilitava a realização de algumas análises no equipamento de EC. Porém, estas se mostravam com baixa resolução na separação dos HPAs, que eluíam juntos dentro da FEM em direção do detector. Vale destacar que mesmo depois de feito um estudo na otimização do eletrólito de corrida, não foi possível obter as separações desejadas.

Quando o procedimento de preenchimento não é eficiente para homogeneizar o monólito, este pode ficar aderido à parede do capilar, mas não recobre toda a estrutura radial do tubo assemelha-se à formação de uma FE apenas na superfície do capilar. Neste trabalho, não foi possível conseguir imagem no MEV ou no microscópio USB digital com baixa resolução, da extremidade do capilar com o problema - orifício no centro - da FEM. O microscópio de baixa resolução não foi capaz de detectar as avarias existentes nas colunas que foram preenchidas com o uso do dispositivo manual DMAP II. Portanto foi realizado um desenho simulando o possível orifício na estrutura monolítica, conforme ilustrado na Figura 22.

Figura 22- Representação de um monólito com problema de preenchimento

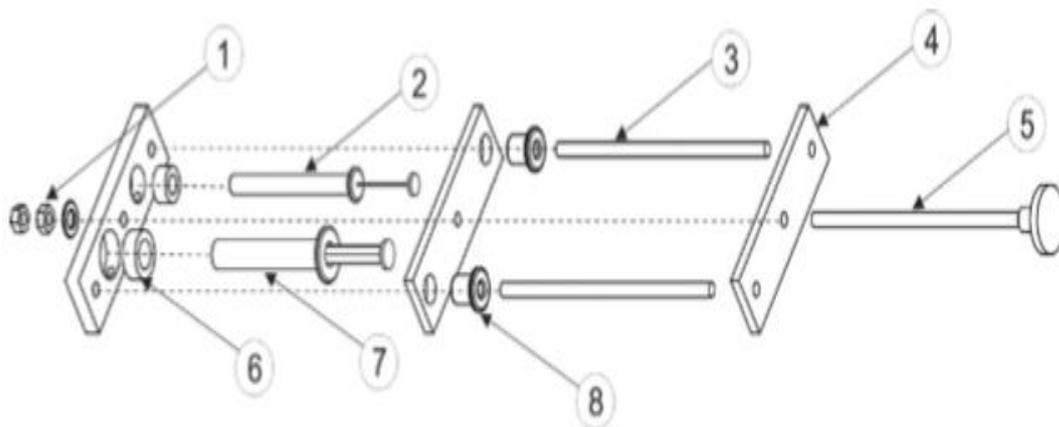


Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Diante destas dificuldades, foi projetada uma adaptação no DMAP II na qual seria possível fazer o preenchimento do capilar no sentido da sucção do sol ao invés da liberação. Para tal, foi adicionado ao DMAP II um sistema de encaixes em que seria possível a inserção das FEM a vácuo, forma usada no sentido contrário ao de funcionamento a princípio realizado. Então, a inserção do sol passou a ocorrer por sucção do líquido, diretamente do reservatório onde está contido, para dentro do tubo capilar. Diferentemente da forma na qual vinha sendo realizada, antes da modificação, em que era feito o movimento de avanço da plataforma móvel, conforme já descrito anteriormente para expelir o líquido - sol contido dentro da seringa para o interior do capilar.

Para o novo modo de funcionamento, todos os componentes estruturais do sistema de encaixe foram planejados e desenvolvidos em software, conforme apresentado na Figura 23 onde é mostrado a produção do DMAP II. O projeto e a etapa de usinagem, também foram realizados na oficina mecânica da Física da Universidade Federal de Juiz de Fora- MG e sob a coordenação do professor José Paulo Rodrigues Furtado de Mendonça.

Figura 23 - Desenho técnico do projeto DMAP a vácuo. 1) porcas e arruelas, 2) seringa, 3) guia, 4) base, 5) barra roscada, 6) bucha nylon, 7) seringa, 8) bucha da guia

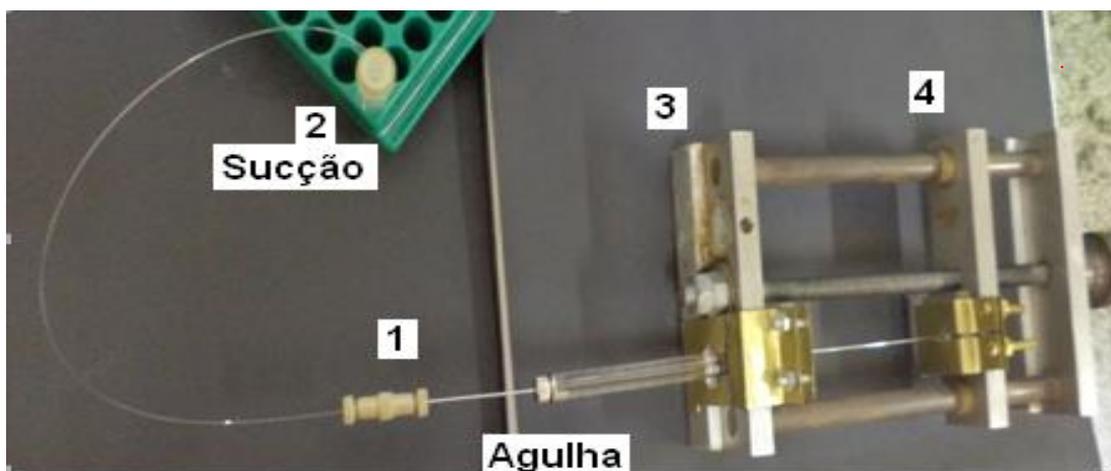


Fonte: (RIBEIRO, 2014)

Pode-se observar que a FEM sendo introduzida por sucção a vácuo é evitado o contato do sol com a agulha, a seringa e os conectores, evitando, conseqüentemente, o aumento no tempo de produção das FEM, assim como o encarecimento do custo do processo. Utilizando-se a sucção a vácuo, também não é formado o acúmulo de ar no monólito, o que permite a obtenção de corrente e reprodutibilidade nas análises.

O novo dispositivo foi chamado de DMAP a vácuo e funciona da seguinte forma (Figura 24): uma extremidade do capilar é conectada à agulha da seringa, através dos conectores apropriados - 1, a outra permanece livre para ser imersa no sol, contido em um recipiente independente do sistema - 2.

Figura 24 - DMAP a vácuo - Movimento de sucção do sol (RIBEIRO, 2014).



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

A seringa é segura na plataforma fixa - 3 e o êmbolo na plataforma móvel - 4 do DMAP, através de encaixes de segurança especiais. Estes tornam possível o movimento do êmbolo no sentido da sucção do líquido, movimento de recuo, diretamente do recipiente onde o sol está contido para dentro do capilar.

A Figura 25 mostra os encaixes de segurança que permitem o sistema operacional de funcionamento do novo modelo do DMAP a vácuo, construídos especialmente para permitirem o movimento de recuo da plataforma móvel.

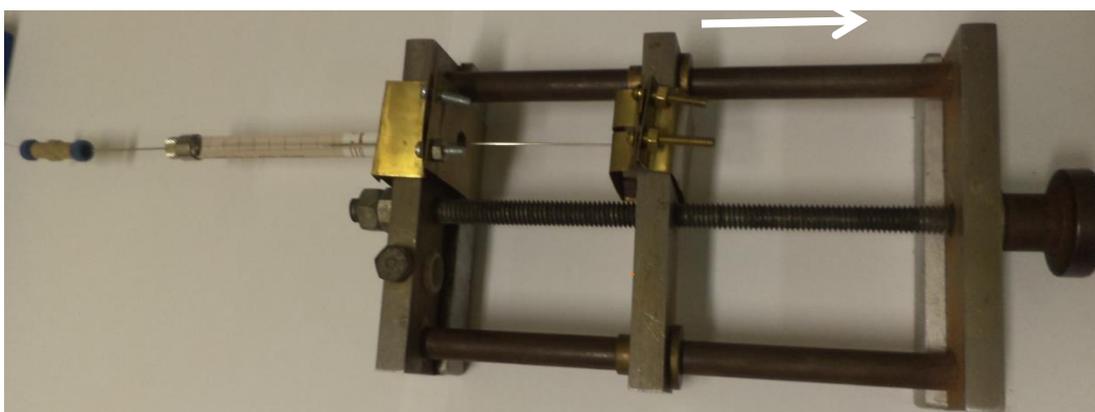
Figura 25 - Encaixes de segurança para seringa e êmbolo construído em parceria com o departamento de física da UFJF



Fonte: (RIBEIRO, 2014)

Estes foram feitos de latão, possuem parafusos e roscas para o acoplamento na plataforma do dispositivo e seguram a seringa e o êmbolo (Figura 26). Além disso, tiveram que ser modelados de acordo com o formato das plataformas do DMAP II e do sistema de injeção. Desta forma, é garantido o uso do novo modo de inserção a vácuo da FEM no interior do capilar (RIBEIRO, 2014).

Figura 26 - Movimento de recuo da plataforma móvel do DMAP II



Fonte: (RIBEIRO, 2014)

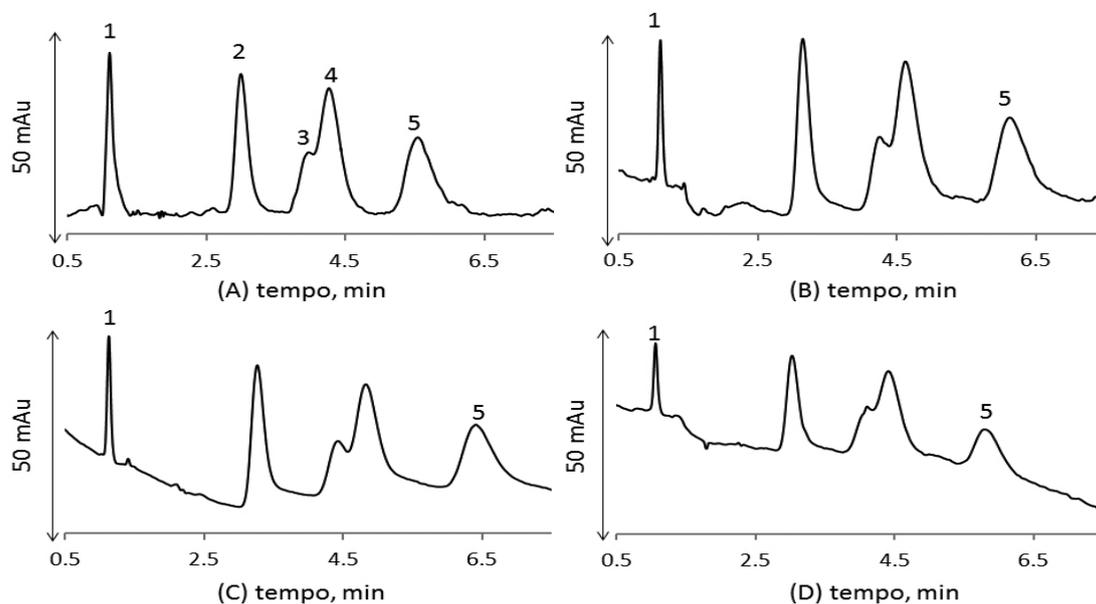
É importante observar que o novo modo de funcionamento, além de não comprometer o funcionamento das conexões e seringas, traz melhoria na homogeneidade, controle e repetição no preparo das colunas. Vale destacar que grupos de pesquisas nesta área, têm enfrentado dificuldades para reproduzir as análises, com o uso das FEM, fato este que tem desestimulado novos pesquisadores a realizarem pesquisas em ECC (BELENKII, 2006; GEISER, 2007; KOSITARAT, 2011)

Segundo PONCE(2011), o momento mais crítico é a inserção da FEM no capilar, uma vez que é preciso ter repetibilidade na homogeneidade ou uniformidade do monólito, o que garante as mesmas condições de separação nas análises. De fato, corroborando a preocupação existente em relação às dificuldades em pesquisas com FEM, em palestra proferida durante a Escola de Inverno de Separação da Unicamp, em julho de 2013, o cientista especialista em colunas monolíticas, professor Milton L. Lee declarou “temer pelo desestímulo aos trabalhos com FEM por não haver reprodutibilidade nas produções das colunas”. Fato que prejudica o avanço na área eletrocromatográfica.

Então nas análises em ECC feitas com o novo modelo de funcionamento, otimizado, do DMAP a vácuo, em todas as corridas, a corrente se mostrou estável, possivelmente devido à estrutura homogênea da FEM conseguida com o novo modelo de inserção. Com isso, depois que foi usado o novo dispositivo de inserção todas as corridas puderam ser realizadas com ótimas correntes e boas análises.

Todas as FEM, isto é, cem por cento das colunas produzidas de forma otimizada, mostraram-se homogêneas, com perfis de picos semelhantes e foram eficientes nas separações dos HPAs. Esta etapa só foi conseguida depois da criação do sistema de encaixes que tornou disponível a otimização do dispositivo e os picos referentes aos HPAs, enfim apareceram (Figura 27).

Figura 27 - Eletrocromatogramas obtidos em colunas produzidas A, B, C e D em capilar TSUOrdem de eluição: (1)tioureia, (2) naftaleno, (3) acenafteno, (4) fluoreno e (5) fenantreno, diluídos em metanol a $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. FM: $\text{NH}_4\text{Ac } 16,7 \text{ mmol L}^{-1}$ (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV; temperatura: $20 \text{ }^\circ\text{C}$; injeção: -25 mbar por 5 s; detecção: 220 nm



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Cada pico representa um tipo de HPA. A ordem de eluição foi: (1) tiouréia, (2) naftaleno, (3) acenafteno, (4) fluoreno e (5) fenantreno. Nos eletrocromatogramas a interação da FEM, com características apolares, é menor com os compostos que

apresentam as maiores polaridades. A tioureia que é polar interage menos com a FEM e apresenta o menor tempo de retenção, sendo usada como marcador de fluxo, já que a FEM tem características apolares. O pico da tioureia apareceu em menos de um minuto de corrida. O segundo composto a percolar foi o naftaleno, apolar, e que possui menor massa molecular em relação aos demais compostos aromáticos.

Na sequência, a eluição dos HPAs ocorreu em relação às suas massas molares e formas geométricas que tiveram percolações diferentes entre os poros na FEM. Porém os picos dos acenafteno e fluoreno não foram completamente separados. Uma explicação para isto seriam as interações π - π na separação entre os aromáticos e a FEM o que pode ter contribuído de forma mais efetiva do que as interações hidrofóbicas ou por forças de Van der Waals.

Estes eletrocromatogramas (Figura 27) foram obtidos nas colunas monolíticas preparadas com o mesmo sol, seguindo a mesma metodologia de trabalho, mas em momentos diferentes de preenchimentos. Foi usado o mesmo modo de funcionamento do DMAP a vácuo para o preenchimento de todas as colunas testadas. Cada uma teve sua preparação executada da mesma forma, seguindo rigorosa e criteriosamente os mesmos procedimentos mostrados no capítulo 5.

As preparações de todas as colunas foram feitas da seguinte maneira: depois da solução monomérica pronta, estocada a temperatura ambiente por uma semana, iniciou-se a inserção nos capilares, pré-tratados, com o DMAP a vácuo em uma determinada sequência específica de quatro colunas e após foram fotopolimerizadas. O preparo de cada FEM analisada é detalhado a seguir:

A primeira coluna, chamada de (A), foi pré-tratada, preenchida e polimerizada na parte da noite, em uma temperatura de dezesseis graus confirmada através de termômetro e no equipamento de ar-condicionado no laboratório do GQAQ. Esta foi lavada com metanol e ficou guardada por três semanas para ser posta à análise no equipamento de EC.

Depois de transcorrido uma semana no preparo da primeira coluna, foi pré-tratada, preenchida, polimerizada e lavada na parte da tarde, com condições de temperatura diferente, em torno de 30° C, a segunda coluna chamada de (B). Esta ficou em espera, pronta, à temperatura ambiente, para ser analisada em ECC, no prazo de duas semanas, junto com a coluna (A) também armazenada na mesma forma.

Vale mencionar que o sol do qual se fez o preenchimento da coluna (A) já estava armazenado à temperatura ambiente por uma semana, dentro do armário, abaixo da

bancada e ficou por mais uma semana até ser feito o preenchimento da coluna (B). A temperatura do ambiente variou entre 17° e 30°C em todos os dias da semana em que o sol e a FEM ficaram armazenados.

O preparo da coluna (C) ocorreu uma semana após o preparo da segunda coluna e seguiu todos os procedimentos realizados nas colunas anteriores, mas novamente em condições ambientais diferentes. Esta foi produzida na parte da manhã, com o ar condicionado posto na temperatura de 20° C, e com o sol já armazenado à baixa temperatura por uma semana. Em seguida, a coluna (C) ficou no aguardo, por uma semana até a análise, juntamente com as outras colunas (A e B).

O sol do preenchimento, após ser usado na segunda coluna (B), foi armazenado na geladeira em baixa temperatura, em torno de 2° C. Então, para o preparo da terceira e quarta coluna, o armazenamento da solução polimérica foi mantido a praticamente 2° C.

Depois de três semanas, no momento das corridas eletrocromatográficas, a coluna (A) armazenada à temperatura ambiente, foi posta a análise junto com a coluna (B), que ficou guardada por duas semanas, também à temperatura ambiente. Neste mesmo dia, também foi analisado a coluna (C), armazenada conforme as outras só que por uma semana. Junto das análises das colunas A, B e C, houve o preenchimento com o mesmo sol inserido nas demais colunas, a polimerização e a lavagem da quarta coluna (D), no período da tarde, quando a temperatura ficou em torno de 27° C, e esta foi analisada no mesmo dia em que foi preparada, junto com as demais colunas.

A tabela 6 mostra as diferentes temperaturas usadas no preenchimento do tubo capilar com a solução do monólito. O desejável seria saber o que a variação da temperatura poderia interferir na formação aleatória dos poros e conseqüentemente nas análises eletrocromatográficas.

Tabela 6. Temperatura de preenchimento, polimerização e limpeza da FEM.

Coluna preparada	Temperatura de preenchimento (°C)
Coluna (A)	16
Coluna (B)	30
Coluna (C)	20
Coluna (D)	27

A estabilidade do sol preparado nestes preenchimentos também foi testada. Então, o sol foi produzido ficou armazenado por uma semana em temperatura ambiente e em seguida inserido na coluna (A) e ficou novamente guardado, em temperatura ambiente, por mais uma semana até o preenchimento da coluna (B). Em seguida ficou armazenado em baixa temperatura (2 °C) por uma semana até o preenchimento da (C) e por mais uma semana até o preparo da (D), sob baixa temperatura, conforme pode ser visto na tabela 7.

Tabela 7. Temperatura de armazenagem do sol usado no preenchimento das FEM.

Sol / colunas	Temperatura de Armazenamento do sol (°C)/Semana
Coluna (A)	Temperatura ambiente
Coluna (B)	Temperatura ambiente
Coluna (C)	2°C
Coluna (D)	2°C

Assim como ocorreu nas análises anteriores a esta, o requerido foi saber o quanto a armazenagem em diferentes temperaturas do sol poderia interferir na formação dos poros e nas separações.

Ao analisar a estabilidade no tempo de armazenamento, das colunas monolíticas prontas (Tabela 8), pode-se observar que a coluna- (A) ficou pronta e guardada por três semanas à temperatura ambiente sem estar imersa em solução, antes da análise em ECC. A coluna (B) ficou pronta e em espera por duas semanas nas mesmas condições que a coluna anterior e as demais. A coluna (C) permaneceu por uma semana pronta e a (D) só foi preparada e testada no momento da corrida eletrocromatográfica.

Tabela 8. Tempo de armazenagem da FEM em espera para análise em ECC

Coluna preparada	Tempo de estoque da FEM(Semanas)
Coluna (A)	3
Coluna (B)	2
Coluna (C)	1
Coluna (D)	-

Tanto a solução monomérica como as FEM puderam ser observadas, em análises com HPAs em ECC, em relação ao tempo de armazenamento e as condições de preparo. O objetivo foi verificar a influência do tempo, temperatura e da variação climática na preparação, polimerização, no estoque do sol e das colunas monolíticas.

Com isto pode-se avaliar a estabilidade do sol através do tempo de estocagem, assim como na influência, de sua inserção e polimerização, de tempos e condições variadas. A repetibilidade no preparo do sol e da FEM foram testadas, em dias e momentos diferentes, e não ocorreram modificações em suas composições. O solvente tolueno, responsável pela formação dos poros, permaneceu em solução provavelmente sem variar sua concentração inicial o que foi indiciado pela semelhança entre os picos eletrocromatográficos na separação de HPAs.

Tabela 9. Condições gerais de trabalho no preenchimento das FEM

Coluna preparada	Temperatura de preenchimento (°C)	Tempo de estoque FEM pronta (Semanas)	Temperatura de estoque do sol (°C)	Tempo de estoque do sol (semanas) antes do preenchimento
Coluna (A)	16	3	Ambiente	1
Coluna (B)	30	2	Ambiente	2
Coluna (C)	20	1	Ambiente	1
			2 °C	3
Coluna (D)	27	-	Ambiente	2
			2 °C	4

Nas análises envolvendo a separações de HPAs (Figura 27) podem ser notados nos eletrocromatogramas das colunas (A), (B), (C) e (D) que não houve variação na separação dos HPAs. As FEM apresentaram os mesmos perfis de separação coincidente com os tempos, também, semelhantes de análises.

Diante dos resultados foi possível observar que as condições ambientais que variaram durante a produção, preenchimento e o armazenamento das FEM não interferiram no processo de formação porosa do monolito. Cada coluna analisada, de acordo com os eletrocromatogramas, se comportou de maneira semelhante – provavelmente por apresentarem a mesma distribuição porosa - com os mesmos resultados dos perfis de separações. Cada pico que corresponde a um tipo de HPA foi

detectado de acordo com as suas absorções características e confirmados através de seus espectros.

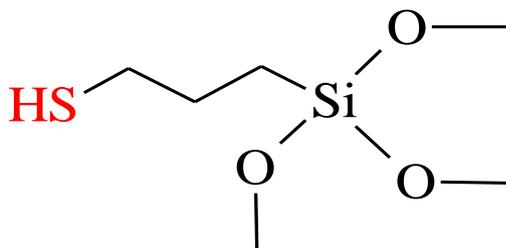
Vale destacar que as colunas foram inseridas com o novo DMAP a vácuo, produzidas com o mesmo sol, seguido a mesma metodologia de produção e execução nas análises. Todas foram condicionadas somente no aparelho de EC por apenas cinco minutos e apresentaram corrente já nas primeiras corridas. Portanto é possível observar o mesmo perfil de separação em todas as colunas o que não tinha sido conseguido em outras análises, sem a inserção modificada pelo novo DMAP, das FEM. Quanto ao tempo de estocagem da solução monomérica, não foi percebido nenhum tipo de deterioração ou evaporação do agente porogênico - em ficar por aproximadamente um mês guardado em temperatura variada – já que, possivelmente, os poros tiveram formatos e tamanhos semelhantes.

Também pode ser confirmado de acordo com a análise do eletrocromatograma mostrado na Figura 32 (A) e (B), que envolveu o uso da temperatura na inserção do sol nas FEM, com a ajuda do Ar- condicionado do laboratório, que, não houve mudança nos perfis de separação. A variação da temperatura de 16 para 30 °C no preparo e no preenchimento com o sol, no capilar, não interferiu na formação dos poros das FEMs. Então a variação da temperatura no preparo e no preenchimento com o sol para a formação das FEM, não é um fator que interfere na formação dos poros – com a mesma metodologia e reagentes aqui usados - e conseqüentemente na separação eletrocromatográfica.

6.2 PRÉ-FUNCIONALIZAÇÃO DA FEM COM REAGENTE SILILANTE MPTMS

Antes da funcionalização da FEM, foi realizada a pré-funcionalização com um reagente sililante, conforme abordado no trabalho de YE e FANG(2011). Esta pré-funcionalização serviu para garantir a ancoragem das nanopartículas na FEM. O agente de pré-funcionalização usado apresenta grupos sulfetos em sua estrutura(Figura 28) que podem ligar-se eletrostaticamente às AuNps.

Figura 28 - Estrutura do agente sililante- MPTMS usado como reagente de funcionalização ou de pré-funcionalização



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

A pré-funcionalização consistiu na reação da FEM contida no capilar com o reagente sililante 3-mercaptopropiltrimetoxissilano – MPTMS. Na tentativa de repetir o processo de pré-funcionalização foi usado o dispositivo à alta pressurização do GQAQ e estufa de aquecimento convencional. Em primeira análise, o reagente sililante foi diluído em tolueno 10%/90% V/V e em seguida, foi percolado por entre a FEM por uma hora. Após esta passagem, o capilar foi levado à estufa para aquecimento por mais uma hora, onde foi realizada a reação de pré-funcionalização, ou seja, a reação entre os grupos metóxidos do MPTMS com as hidroxilas pendentes do PTMS. Este procedimento foi chamado de método 1 e seguiu conforme descrito no trabalho mencionado.

Cabe ressaltar que no processo para a pré-funcionalização na referência citada, não foram encontrados os detalhes primordiais para execução desta reação, como o aparato onde foi feito o aquecimento *in situ* descrito na reação e o dispositivo de inserção do líquido percolado por dentro do capilar.

Em seguida, para a caracterização, foi feita a passagem de nanopartículas de ouro por sob a FEM, já com o reagente sililante aderido em sua estrutura. As AuNps aderem ao grupo sulfeto do monólito pré-funcionalizado, no qual pode ser percebido a mudança da coloração da FEM que passa do branco ao violeta no término do processo. A visibilidade da coloração violeta aumenta de acordo com a maior concentração das nanopartículas ancoradas na FEM. Quanto mais intensa for, pressupõe-se que maior seja a concentração do ouro aderido na estrutura polimérica e maior também será a concentração de grupos sulfetos aderida na FEM. Desse modo, este foi um parâmetro usado para mostrar a eficiência na pré-funcionalização (KEATING, 1998; PLUEDEMANN, 1991).

A fotografia abaixo, (29), mostra que a fase estacionária monolítica pré-funcionalizada – conforme método 1 – não mudou perceptivelmente a sua coloração após a passagem das AuNps. Porém, foi possível constatar uma coloração violeta de tonalidade bem fraca em alguns pontos da estrutura do monólito, mesmo ao se observar a coluna a olho nu.

Figura 29 - Fotografia da FEM pré-funcionalizada conforme método 1 após passagem das AuNps



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

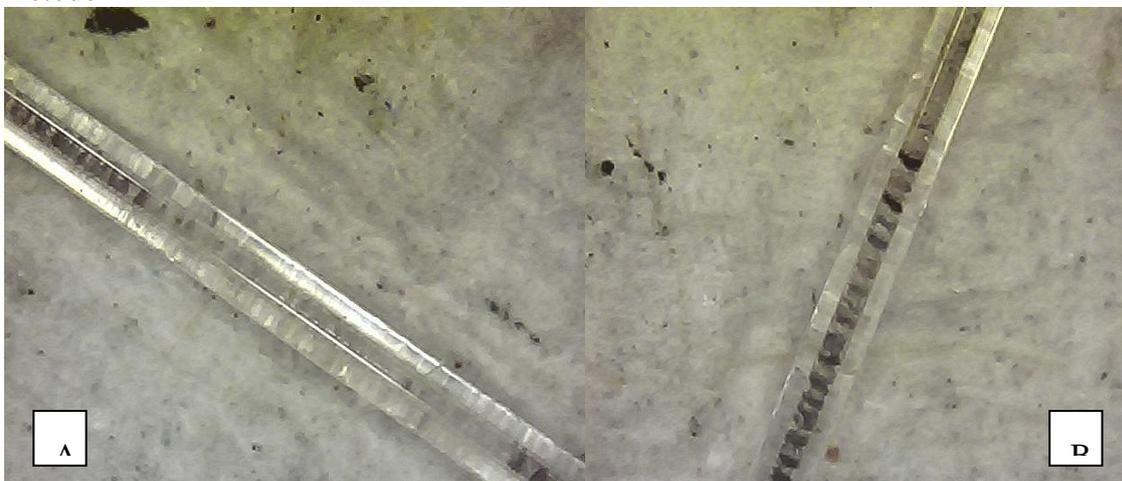
Como não ocorreu no uso do método 1 a formação da FEM com coloração violeta acentuada, após a passagem das nanopartículas de ouro pela FEM pré-funcionalizada, foi pensado em se fazer outro teste. Desta forma, realizou-se uma tentativa de reação exploratória, variando o tempo de passagem e de aquecimento do reagente sililante percolado pela FEM. Vale destacar que a passagem das AuNps pela fase estacionária com o reagente sililante pode mostrar – através da presença da cor violeta uniforme em toda a FEM – que o processo de pré-funcionalização foi bem realizado. Assim sendo, foram testadas várias passagens do reagente sililante intercaladas por vários aquecimentos. Estas passagens e aquecimentos repetiram-se por tempos e vezes superiores ao que foi realizado no método 1.

Todos os processos foram realizados com o auxílio do DMAP, no qual através do capilar contendo a FEM com o PTMS, o MPTMS foi percolado por uma hora à temperatura ambiente e em seguida deixado na estufa a 110° C por também 1 hora. Este processo repetiu-se por mais cinco vezes cada. Após cada passagem do reagente por uma hora por dentro do capilar, este seguia para a estufa por mais uma hora. Este

processo foi chamado de método 2 e aconteceu por tempo superior a dez horas de trabalho.

Em seguida, a coluna também foi caracterizada por passagens das AuNps, baseando-se também na mudança da coloração do monólito para o violeta. O resultado deste novo método 2 mostrou que a coloração violeta não ficou com tons iguais na superfície radial da FEM. Isto indica a ocorrência de uma fraca adesão do reagente de pré-funcionalização na coluna monolítica conforme é mostrado na Figura 30 em diferentes FEM representadas por letras A e B (YE FANG-GUI, 2011).

Figura 30 - FEM A e B pré-funcionalizadas com falhas na coloração violeta conforme método 2



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Com o uso do método 2 – passagens repetidas e intercaladas do reagente de funcionalização por cinco horas cada – foi observada através da fotografia A e B, uma coloração violeta mais intensa, porém cheia de falhas, o que corresponde à baixa adesão dos sulfetos em alguns pontos da FEM.

Todavia, com o novo método, criou-se uma expectativa de conseguir a realização dessa tarefa, já que com o aumento no tempo de pré-funcionalização houve uma melhoria significativa no resultado esperado. Emergiu, então, a necessidade de se construir um equipamento específico para o aquecimento, no momento da passagem do reagente sililante, por dentro da FEM. Logo, devido à insistência em obter o acerto almejado na pré-funcionalização e à falta de informações por parte da referência adotada e de outras fontes bibliográficas, foi criado um aparato de aquecimento, denominado de mini-forno (Figura 31).

Este acopla o capilar em toda a sua extensão e promove o aquecimento homogêneo em toda a sua superfície radial da FEM durante a passagem do reagente sililante. O aparato foi criado também em parceria com o professor José Paulo Mendonça do Departamento de Física da Universidade Federal de Juiz de Fora, tendo como objetivo aquecer o capilar de sílica em toda a sua extensão de forma homogênea, efetiva e precisa para ocorrer a adesão perfeita do reagente sililante e permitir uma boa funcionalização com as AuNps.

Figura 31 -A -construção do Mini-forno para aquecimento da FEM B –Mini-forno Produzido



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

O mini-forno constituiu-se por um tubo também de sílica, com diâmetro em torno de 0,2mm, para permitir a inserção do capilar a ser aquecido. Este tubo é inserido dentro de um tubo de cobre, Figura 31- A, com as extremidades fechadas com Teflon. A proposta é que o ar fique preso entre os tubos evitando a convecção livre com o ar externo. Isto garante uma uniformidade na distribuição da temperatura ao longo do eixo do capilar.

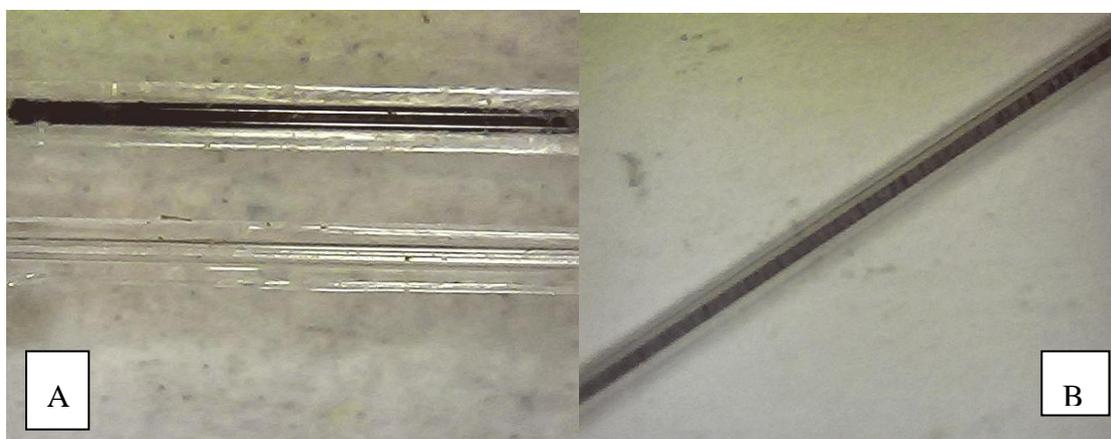
O tubo de cobre foi revestido por uma fita de teflon, a que foi envolvida por um fio de níquel-cromo. Este fio de níquel-cromo foi ligado a uma fonte de tensão-/corrente e a função da fita de teflon foi servir de isolante elétrico para altas temperaturas (até a temperatura de 400 °C.). Desta forma, ao conectar o fio de níquel-cromo à fonte de tensão, a temperatura atingida foi uniformemente distribuída pelo tubo de cobre (que possui uma excelente condutividade térmica).

Para garantir ainda mais a estabilidade da temperatura e evitar o seu transiente foi introduzido um tubo de PVC (baixa condutividade térmica) de parede espessa. Entre

o cano de PVC e cobre foi adicionado lã de vidro para gerar uma alta resistência térmica que acaba reduzindo a taxa de transferência de calor para o meio externo. Isto faz com que o sistema entre em equilíbrio térmico por um grande período de tempo. Este equilíbrio térmico garante a uniformidade da temperatura ao longo do capilar.

O controle da temperatura pode ser feita através do controle da corrente da fonte de tensão e registrada por termômetro inserido entre a FEM e o interior do mini-forno (Figura 31- B). Logo após a produção deste aparato de aquecimento, foi praticável obter FEM homogêneas em termos de coloração, o que é indício de muita adesão do MPTMS na fase estacionária.

Figura 32 - A e B - FEMs após uso do mini-forno



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Nestas micrografias 32 A e B é possível observar o quanto a coloração da FEM foi intensificada em toda a extensão do capilar que a acopla. Na fotografia A é possível observar uma FEM sem a funcionalização e a outra com as AuNps de coloração escura dentro do tubo de sílica. O capilar com a coluna foi inserido no interior do mini-forno, aquecido, e com o auxílio do DMAP o reagente sililante foi percolado por 1 hora por dentro do capilar.

O aspecto homogêneo mostrou-se praticamente perfeito, estruturas bem visíveis com colorações violeta nítida. O mini-forno apresentou uma melhoria bem significativa na eficácia da pré-funcionalização, quer dizer, na ancoragem do reagente sililante na FEM. A comprovação de uma pré-funcionalização bem sucedida foi devido à mudança e a intensificação do aspecto uniforme da cor violeta.

Igualmente foi possível, para concretização do melhor método, a caracterização, com pedaços iguais da FEM pré-funcionalizada, na análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre dos capilares nos quais foram aderidos ao MPTMS. Então se observou a quantidade relacionada de enxofre aderido ao monólito, após o uso de cada método usado na pré-funcionalização.

6.2.1 Caracterização

A caracterização das FEM foi feita por análise elementar, CHNS, onde foi possível observar os valores das porcentagens de enxofre encontrados na FEM dentro capilar de sílica após os métodos e o uso do mini-forno na pré-funcionalização, assim como uma breve análise em ECC da coluna que conteve a maior concentração de grupos SH em sua estrutura.

As análises elementares foram realizadas com o intuito de confirmar a melhor ocorrência da adesão do MPTMS na estrutura do monólito. Foram feitas análises das FEM pré-funcionalizadas, sem o ouro, com massas semelhantes, relacionando o modo de preparo dos métodos usados com a porcentagem de grupos sulfetos que foram encontrados. Esta análise possibilitaria concretizar a melhor maneira de se ligar o reagente sililante na FEM através da % de enxofre.

Primeiro foi cortado em partes iguais (3 cm cada) todos os capilares levados a teste no CHNS. Então, pode ser realizado o primeiro teste no capilar com a FEM, tida como branco, sem a pré-funcionalização, para em seguida analisar as partes dos capilares segundo uso dos métodos 1, 2 e do mini-forno. Na tabela abaixo pode ser visto a porcentagem aderida de enxofre na FEM com o uso dos três métodos já descritos.

Tabela 10. Resultados do CHNS

Métodos	% SH aderido na FEM após funcionalização
1	0,72
2	1,02
Mini-forno	1,94
Branco	0,12

A análise do capilar branco, sem a pré-funcionalização, serviu como parâmetro para comparar a porcentagem da massa de reagente sililante, com enxofre aderido após o uso dos métodos e do mini-forno, nas passagens do MPTMS através da FEM.

A porcentagem de 0,012 analisada, referente à massa de enxofre encontrada aderida a FEM (Branco) pode ter ocorrido devido à atmosfera, contaminação e ao ar presente no forno do equipamento do CHNS.

No método 1, semelhante àquele empregado no trabalho de YE FANG-GUI (2011), no qual a passagem do MPTMS por sob a FEM se deu por uma hora à temperatura ambiente e em seguida foi levado a estufa por mais uma hora sob temperatura de 110 °C. O resultado na análise elementar de enxofre mostrou que a porcentagem de sulfeto encontrada (0,72 % de enxofre) foi a mais próxima ao resultado semelhante o do branco (0,12 % de enxofre). Com isto é possível considerar que este método não garante a funcionalização das AuNps.

Contudo, a análise no método 2, em que foi repetido o método 1 seguido de cinco repetições intercaladas entre aquecimento e passagem do MPTMS, o resultado encontrado no CHNS (1,02% de Enxofre) mostrou que também não houve uma boa adesão do reagente sililante. A porcentagem encontrada de grupos SH não poderia garantir a adesão homogênea das AuNps em toda a superfície da coluna capilar. Na análise do segundo método houve muitas falhas na coloração, (Figura 30), o que atesta as análises no CHNS. A baixa taxa de grupos SH na FEM preparada no método 2, não garantiu a adesão desejada, que seria em todo o leito polimérico de forma homogênea e uniforme.

E por fim, os testes do CHNS, que envolveram as FEM pré-funcionalizadas com o mini-forno a porcentagem encontrada (1,94 % de enxofre) foi superior as dos outros métodos, fato que foi possível observar também, na mudança de coloração das FEM com a funcionalização (Figuras 38 A e B). Com isso o mini-forno construído para este propósito garantiu a melhor maneira de aderir o reagente sililante para a posterior fazer a funcionalização com nanopartículas de ouro, tido como objetivo secundário do trabalho.

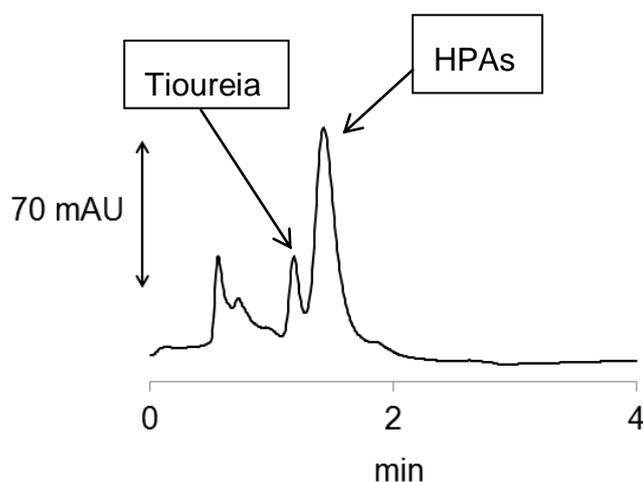
Cabe lembrar que o mini-forno não foi otimizado, mas mesmo assim, foi eficiente na adesão do SPTMS na coluna monolítica e pode contribuir na busca da possibilidade de melhorias em diversos tipos de possíveis funcionalizações e polimerizações das FEM que precisam absorver calor.

6.2.2 Análises em CEC

Depois de realizar a passagem do MPTMS pelo tubo capilar com a FEM e levada ao mini-forno, foi observado, no condicionamento que houve a vazão do eletrólito através da FEM. Isto ocorreu em todas as pré-funcionalizações testadas, após o uso do mini-forno, o que garantiu o não entupimento, dos poros, na reação entre a fase estacionária e o MPTMS. Com este fato, foi possível obter corrente elétrica quando em teste no equipamento de CE.

Assim sendo, depois de percolado MPTMS e aquecido dentro da FEM, foi posta em análise, uma coluna preparada. Um condicionamento de cinco minutos - com o mesmo eletrólito das corridas eletrocromatográficas anteriores conforme mostrado na parte de métodos - foi realizado para a obtenção de corrente elétrica, então foi analisada a separação dos HPAs com a tioureia.

Figura 33 – Eletrocromatograma obtido em uma coluna produzida em capilar TSU em análise com: tioureia, naftaleno, acenafteno, fluoreno e fenantreno, diluídos em metanol a $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. FM: NH_4Ac $16,7 \text{ mmol L}^{-1}$ (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV ; temperatura: $20 \text{ }^\circ\text{C}$; injeção: -25 mbar por 5 s; detecção: 220 nm



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Nas corridas eletrocromatográficas acima (Figura 33), foram injetados, além da tioureia, os mesmos HPAs já analisados antes. Constatou-se nesta análise, que não houve a inversão da migração em relação à FEM sem a pré-funcionalização. A inversão da migração do marcador de fluxo era esperada, pois a FEM com o regente

sililante em sua estrutura passaria a ter um caráter polar mais acentuado. Sendo assim, a tioureia, composto polar, deveria sair por último, depois dos HPAs, que apresentam características apolares. Na análise acima, pensou-se ter ocorrido conforme o descrito anteriormente, mas depois de analisados os espectros de absorção referentes aos HPAs e tioureia foi constatado que não houve a inversão de migração na FEM pré-funcionalizada.

Com isso, pode-se afirmar que a tioureia passou primeiro na frente do detector e os HPAs saíram por último, embora os picos estivessem quase que eluindo juntos é possível afirmar que a FEM teve características também de fase reversa. Os outros picos não foram identificados, pois não apresentaram absorções espectrais.

Uma hipótese a ser mencionada é que o reagente sililante pode ter sido ancorado na FEM do capilar e/ou entre si mesmo, sob aleatórias formas de interações e ligações.

Estas formas podem interagir de maneira diferenciada com o analito e também formar leitos poliméricos com a superfície não uniforme e ineficiente nas separações. Podem ocorrer cavidades muito pequenas que provocariam menores vazões e com isso maior pressão na FEM. Além do aprisionamento ou forte retenção da amostra, o que poderia provocar alargamento dos picos e formação de caudas.

Outro fato a ser levado em conta é que a ancoragem do reagente sililante diminui também a quantidade de grupos silanois livres - possivelmente presentes na estrutura do PTMS antes da pré-funcionalização - com isso, aumentariam os grupos siloxanos, dispensáveis em cromatografia, que interagem de maneira menos intensa e provocam menores seletividades (COLLINS, 2006). Diante desses fatos, seria normal o aparecimento de picos, com formas aleatórias, que interagiram sob não explicáveis formas - chamados de “picos fantasmas”.

Outras análises devem ser realizadas para um diagnóstico otimizado dos efeitos da pré-funcionalização nessa separação.

6.3 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO- AUNPS

Depois da pré-funcionalização foi realizada a funcionalização ou derivatização com AuNps da FEM também objetivada neste estudo. A FEM funcionalizada foi testada em análises envolvendo HPAs. Então, a iniciativa para a funcionalização foi a síntese

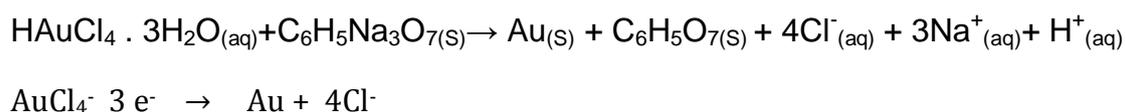
das nanoparticulas. As AuNps apresentam propriedades químicas e físicas que permitem a interação com diversos tipos de amostras. Essa reação de síntese teve como parâmetro de sucesso a ressonância de plasmon de superfície localizado (LSPR), que confere a variação na cor do ouro de amarelo para o violeta e que pode indicar também o término da reação (MULVANEY, 1996)

As nanoparticulas sintetizadas podem adquirir formas e tamanhos variados de acordo, por exemplo, com a quantidade de estabilizante e passivante usados. Como estas ficam aderidas por dentro dos macro e mesoporos da FEM, foi viável garantir um pequeno tamanho das partículas, para não obstruir o fluxo eletrosmótico quando em análises. Também foi conveniente o uso de agentes passivantes adequados para garantir a estabilidade e o aprisionamento das nanoparticulas, a serem usadas na FEM. (SPERLING, 2008).

6.3.1 Reação de formação das AuNps

A reação de redução, (Figura 34), representada abaixo, mostrou-se o sal de ouro em contato com o citrato de sódio para a formação da espécie do ouro coloidal com número de oxidação que variou de +3 para zero.

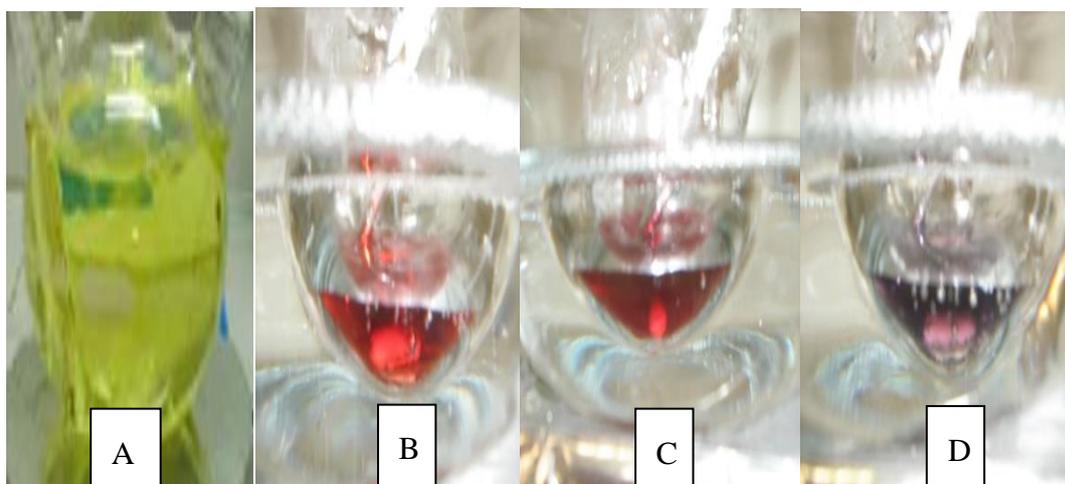
Figura 34 - Equação de redução do ouro



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

A Fotografia 35, da reação realizada mostrou a mudança da coloração que passa gradativamente de amarelo, (Figura A), rosea, (Figura B), a vermelha, (Figura C), até a coloração violeta, (Figura D), o que indicia o fim da reação e a formação das nanoparticulas (TURKEVITCH, 1951).

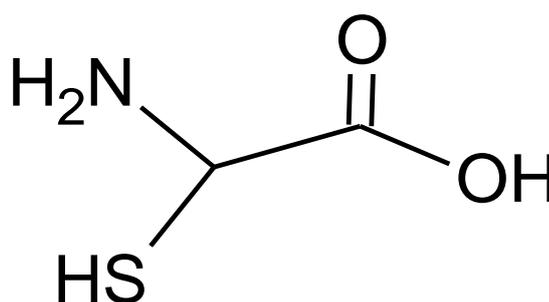
Figura 35 - Foto da reação das AuNps produzidas nesse trabalho



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Depois de cessada a reação foi adicionado a metionina – pode ser também adicionado outro agente passivante - para garantir a estabilização das AuNps. A metionina (Figura 36) foi usada em testes iniciais como passivante do ouro coloidal. Este é um aminoácido essencial que apresenta em sua estrutura grupo sulfeto capaz de se ligar ao ouro das nanopartículas e promover a passivação.

Figura 36 - Metionina usada como agente passivante



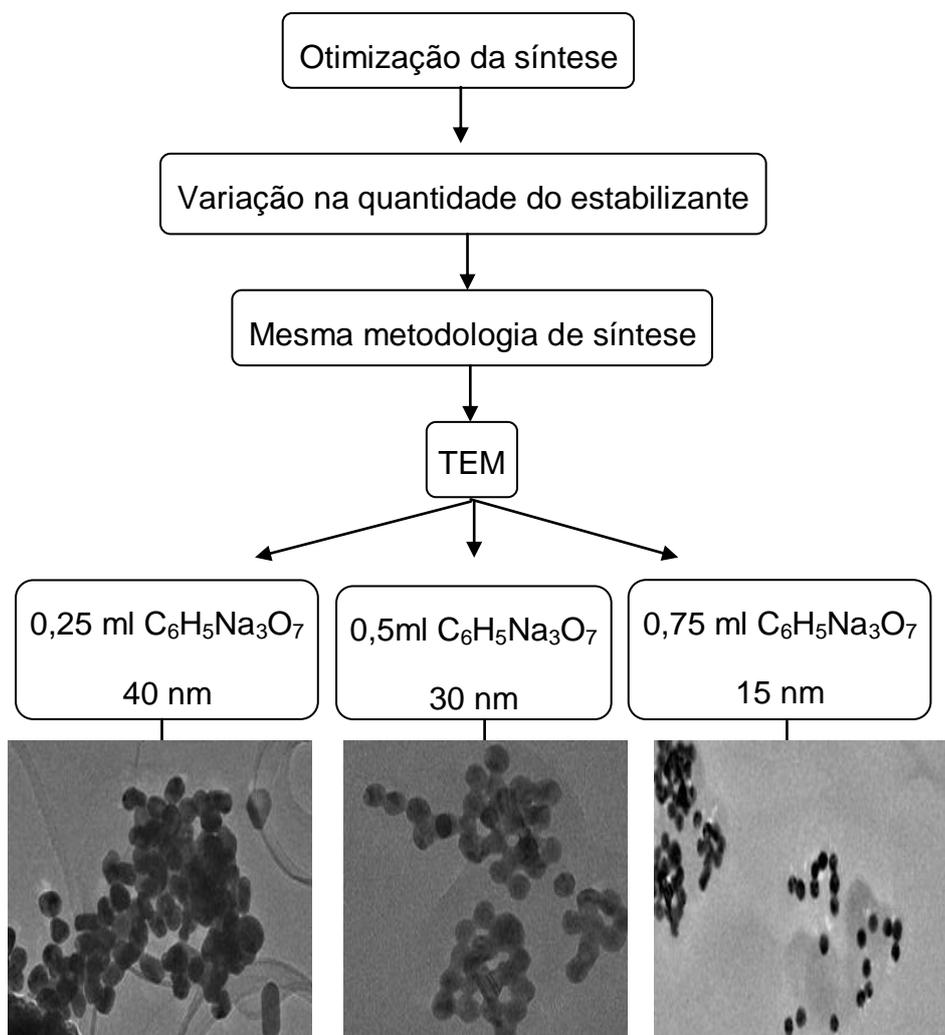
Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Além do grupo sulfeto a metionina apresenta um grupo amino, que poderia ser sítio ativo para as AuNps. Mas, preferentemente, por questões de acidez e basicidade, as nanopartículas ficaram passivadas em maior quantidade com a função tiol por ter interações e ligações possíveis.

6.3.2 Caracterização

Na investigação desta reação foram feitas variações no volume do citrato de sódio que funciona como estabilizante e redutor. Primeiro a síntese ocorreu no padrão normal, conforme as quantidades descritas no método de trabalho e com o uso da metionina como passivante. Em seguida foi usado 0,25 ml a menos e a mais do que a quantidade padrão de $C_6 H_5 Na_3 O_7$. Todas seguindo os mesmos procedimentos de reação conforme relatadas no item referente à metodologia deste trabalho. Em cada nanopartícula formada foi obtidos diferentes formas e tamanhos e a caracterização deste experimento aleatório foi feita por microscopia eletrônica de transmissão - TEM no laboratório Luz Síncrotron em Campinas, como cortesia, através de um projeto do professor Wendel de Andrade Alves da Universidade Federal do ABC- UFABC- SP.

Figura 37 - TEM das sínteses das AuNps com proporções variadas do estabilizador citrato de sódio



Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

Conforme a Figura 37 acima, na proporção usual, chamada de padrão, foram formadas partículas com diâmetros em torno de 30 nm e formas geométricas variadas. No uso de uma quantidade menor do estabilizante foram obtidas AuNps com diâmetros acima de 40 nm, formas cilíndricas e esféricas. Já no uso de uma quantidade maior do citrato de sódio foi obtido formas cilíndricas em maior quantidade e com uma maior homogeneidade, assim como menores diâmetros (abaixo de 15 nm).

Com isso a metodologia de síntese mais eficaz para o ancoramento nas FEM corresponde ao uso de maior proporção do citrato de sódio. Ao invés de 0,5 ml, padrão

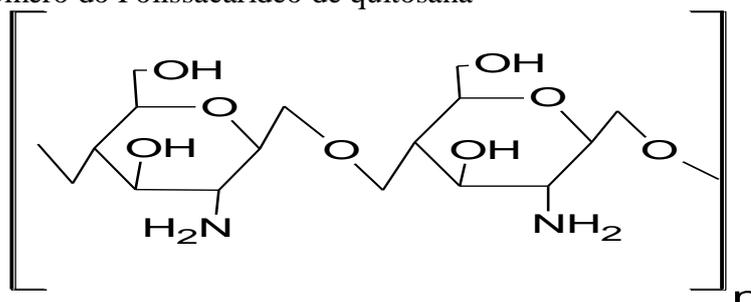
normal, foi usado 0,75 ml. O menor tamanho contribuiu de maneira mais adequada ao ancoramento das AuNps nos macro e mesoporos da FEM o que é fundamental, para não obstruir o fluxo da fase líquida, por dentro do tubo capilar.

Porém, com o uso da metionina como passivante das AuNps, no momento da funcionalização da FEM, não foi possível obter a mudança na coloração do monolito pré-funcionalizado que passaria de incolor para violeta. A mudança de coloração no momento da passagem da solução de ouro por dentro do capilar com a FEM indicaria boa adesão das AuNps ao monolito. Também ocorria o intupimento da FEM após a passagem das nanopartículas, fato que impede a análise em ECC.

Então foi feita a troca desse agente passivante por outro, a quitosana (Figura 38). Esta recebe o nome oficial de $\alpha(1-4)$ -2-amino-2-deoxi β -D-glucana, e é um polímero, mais precisamente um polissacarídeo, com propriedades químicas, físicas e biológicas diversas. Em sua estrutura são encontrados grupos hidroxila e amino que podem se ligar às nanopartículas de ouro e então serem usadas como agente passivante. É obtida por desacetilação da quitina, presente em exoesqueletos de crustáceos.

Com a troca para a quitosana, foi possível verificar uma coloração violeta fraca após a passagem na FEM pré-funcionalizada, (Método 1), da solução coloidal, o que pode ser um indicio de melhor adesão das AuNps no leito polimérico com o uso do novo passivante.

Figura 38 - Monômero do Polissacarídeo de quitosana

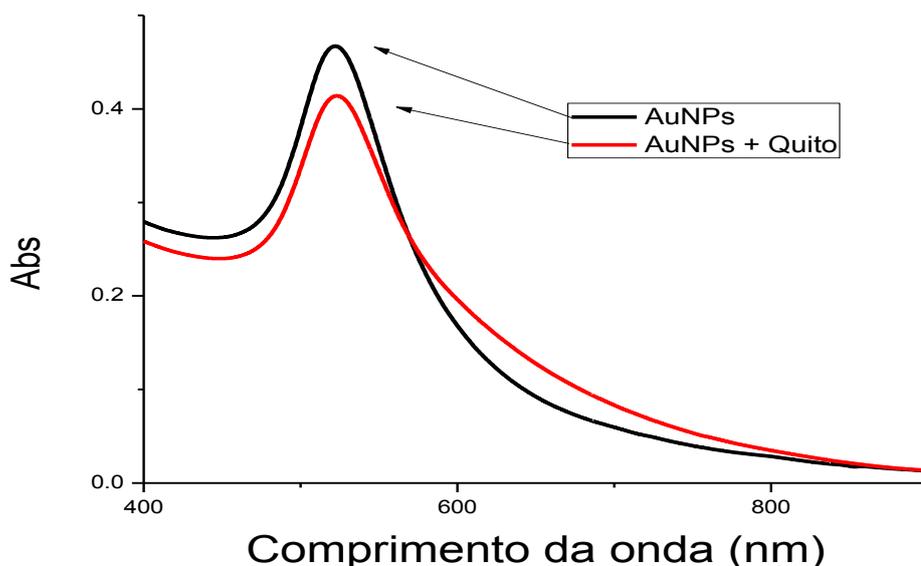


Fonte: ELABORADA PELO PRÓPRIO AUTOR

A síntese da quitosana foi reproduzida a partir da referência de FRENS, 1973 e TAVARES, 2012, e consiste, resumidamente, na preparação de uma solução da quitosana, a partir da desacetilação da quitina, na concentração de 1 g/L. Então esta solução foi adicionada, depois da reação terminada, na quantidade de 1% V/V da solução coloidal.

Outra caracterização foi realizada com a espectroscopia no Ultravioleta visível (UV-Vis), no qual se pode analisar a absorção em 520 nm referente à solução de ouro coloidal, devido ao LSPR (Figura 39).

Figura 39 - UV-Vis das nanopartículas de ouro



ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Os espectros apresentados na Figura 39 foram obtidos da solução preparada com e sem a quitosana e foi realizada de uma amostra cedida pelo grupo de química inorgânica do Professor Gustavo Fernandes da Universidade Federal de Juiz de Fora- MG. Neste trabalho foi sintetizada a própria solução coloidal com o uso da metionina e também quitosana como passivante. A solução foi diluída a aproximadamente $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ com água e posta na cubeta de quartzo no equipamento onde foi observado o aparecimento da absorção característica, no valor de 520 nm, referente às AuNps.

6.4 FUNCIONALIZAÇÃO COM NANOPARTÍCULAS DE OURO DA FEM

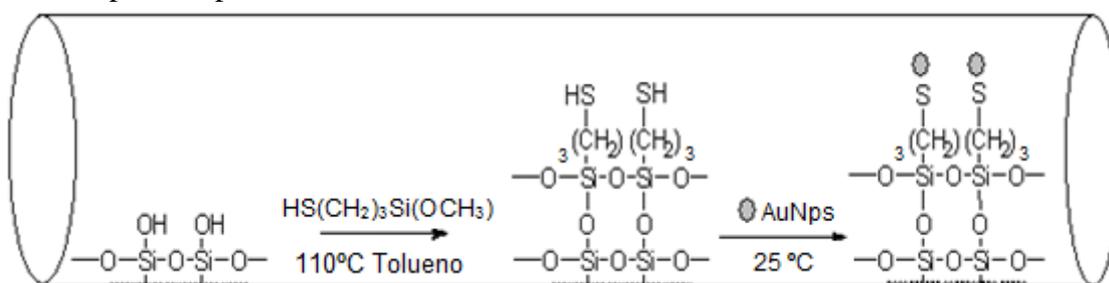
As nanopartículas, sintetizadas com o uso da quitosana, foram capazes de ancorar no grupo sulfeto contido na FEM pré-funcionalizada com o mini-forno. As AuNps podem interagir através de elétrons π com vários tipos de analitos, em especial

com HPAs (KARENGA, 2010). A reação FEM pode ocorrer através de interação eletrostática e ou outros tipos, (VARUNI, 2011) entre ouro e enxofre contido no monólito funcionalizado.

6.4.1 Reação

Em seguida, depois das caracterizações, uma solução contendo o ouro foi posta em contato por 1 hora com a coluna – MPTMS e PTMS – para funcionalização, à temperatura ambiente, dentro do capilar (Figura 40).

Figura 40 – Reação resumida dentro do capilar após pré-funcionalização, a passagem das AuNps no capilar



ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Existem várias referências que abordam diversas formas de preparações de FE com o uso de nanopartículas de ouro (VARUNI, 2011; PAVEL, 2012; QU, 2008; YANG, 2005) As etapas da reação, realizadas aqui neste trabalho, foram reproduzidas e estão detalhadas na parte dos métodos. A diferença entre o que foi realizado nas referências e nesta tese, na funcionalização da FEM com AuNps, foi além dos diferentes dispositivos de inserção e aquecimento, como também, no uso do polímero orgânico em detrimento do de sílica trabalhado pela mencionada referência.

6.4.2 Caracterização

Com o uso da quitosana nas AuNps e o mini-forno na pré-funcionalização, a mudança de cor ocorreu logo na primeira hora de passagem das nanopartículas por entre os poros da FEM e o fluxo não foi obstruído.

Na fotografia da Figura 41, é possível distinguir a FEM sem e com funcionalização ao lado de um capilar sem o monólito presente, somente sílica e o mesmo revestimento que envolve os capilares.

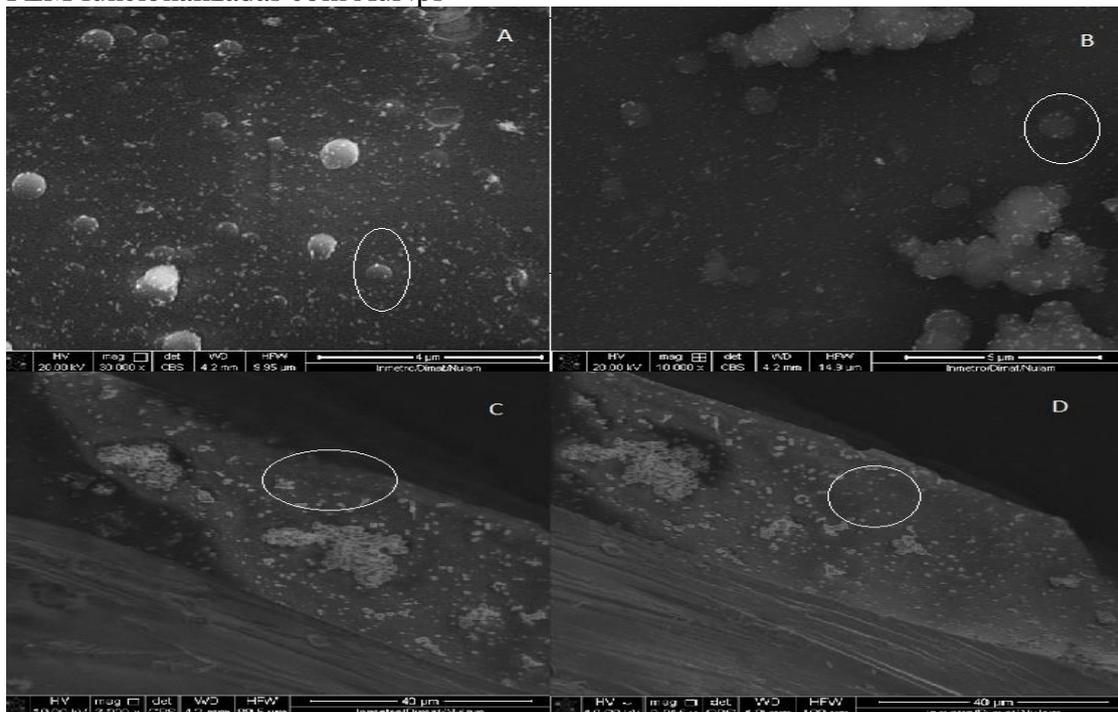
Figura 41 - FEM funcionalizada, pré-funcionalizada e capilar sem FEM



ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Outra caracterização possível foi realizada na análise de microscopia eletrônica de varredura, onde foi constatada como sendo indício de nanopartículas de ouro ancoradas nas FEM funcionalizadas, como pode ser visto e analisado na Figura 42 A, B, C e D.

Figura 42 - A, B, C e D Microscopia eletrônica de varredura – MEV de capilar com FEM funcionalizadas com AuNps



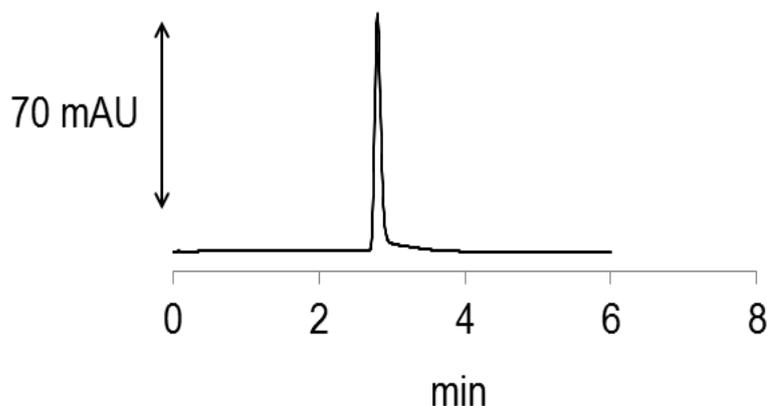
Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

De acordo com a análise realizada no MEV, (Figura 42), obtidas em colaboração do INMETRO, através do professor Gustavo Fernandes de Souza da Universidade Federal de Juiz de Fora- MG e o aluno de pós-graduação Linus Pauling de Faria Peixoto, no qual é mostrado, circulado em branco, o que seriam as possíveis AuNps ancoradas na FEM. Então, nessa análise, houve apenas o indício de que seriam as nanopartículas de ouro, aderidas no interior do capilar, na FEM.

6.4.3 Análises em CEC

Nos primeiros testes eletrocromatográficos (Figura 27) feitos com as FEM, conforme antes mostrado, foi possível observar que ocorreu a separação dos HPAs. Porém nesta etapa da tese foi conseguido realizar essas mesmas análises, com a coluna funcionalizada com as AuNps. Em teste inicial exploratório, primeiro foi injetado em uma coluna com AuNps – (1), somente a tioureia. Esta é usada como marcador de fluxo, e o seu pico pode ser visto conforme o eletrocromatograma da Figura 43 abaixo:

Figura 43 - Eletrocromatograma obtido em uma coluna monolítica funcionalizada-(1) em capilar TSU em análise com: tioureia (1mmol/l). FM: NH_4Ac 16,7 mmol L^{-1} (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV; temperatura: 20 °C; injeção: -25 mbar por 5 s; detecção: 220 nm

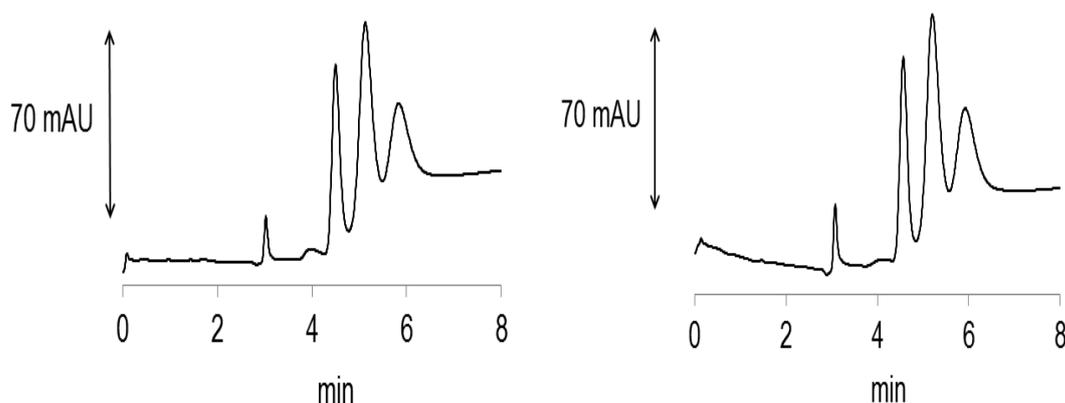


Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

A tioureia, conforme dito anteriormente, é um composto polar e pode interagir com as AuNps através de interações eletrostática e/ou π - π o que proporcionou uma separação definida e com maior tempo de retenção em função das nanopartículas ancoradas na superfície da FEM.

A seguir é mostrado os eletrocromatogramas de duas FEM funcionalizadas , (Figura 44), 1 e 2, preparadas em momentos diferentes, mas com a mesma metodologia de preparo e de funcionalização mostrada na parte dos métodos. Conforme se pode constatar, ocorreu a separação dos HPAs e os formatos dos picos mostraram-se semelhantes em relação às FEM sem a funcionalização (Figura 27). Os espectros de absorção de cada pico adquirido pelo equipamento de EC, através do DAD, confirmam a ordem de eluição e podem ser visualizados em anexo (Anexo).

Figura 44 - FEM- (1 e 2) funcionalizada com AuNps. Eletrocromatogramas obtidos em uma coluna produzida em capilar TSU em análise com: tioureia ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em metanol), naftaleno, acenafteno e fluoreno, diluídos em metanol a $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. FM: $\text{NH}_4\text{Ac } 16,7 \text{ mmol L}^{-1}$ (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV ; temperatura: $20 \text{ }^\circ\text{C}$; injeção: -25 mbar por 5 s ; detecção: 220 nm



Fonte: ELABORADO PELO PRÓPRIO AUTOR

Nessa etapa, o objetivo não era a aplicabilidade das FEM, mas sim, a funcionalização com as AuNps e a obtenção de um leito polimérico útil na separação e consequentemente com obtenção de corrente elétrica.

Como o tempo de retenção dos analitos foram aumentados, pode-se confirmar a possível mudança na FEM. O pico da tioureia, na FEM funcionalizada alcança o detector acima de 3,5 minutos e na coluna sem a funcionalização a tioureia percorreu até a detecção em menos de 1 minuto. Isto sinaliza positivamente para a ocorrência na mudança da superfície dos poros por onde percola a FM. Em seguida – devido o fato de na separação dos HPAs na FEM sem as AuNps, os picos do acenafteno e fluoreno eluam com baixa resolução – foi utilizado apenas os três primeiros HPAs analisados antes em ECC para a verificação do comportamento desses dois picos frente a FEM com AuNps. Portanto, nas análises 1 e 2 em discussão, ocorreu a injeção da tioureia,

naftaleno, acenafteno e fluoreno e as nanopartículas de ouro foram capazes de separar os HPAs, de forma mais resolvida, por presumíveis interações eletrostática e/ou também por interações π - π o que diferencia da interação entre a FEM sem a funcionalização com os mesmos HPAs (STEVENSON, 2008).

Cabe destacar que estes foram testes iniciais e que devem ser investigados os fatores que influem nessas separações.

Diante dos resultados é possível observar e comparar, os maiores tempos de interações entre os HPAs e marcador de fluxo (tioureia), na FEM modificada ou funcionalizada com AuNps, contrapondo com a FEM sem a funcionalização.

Sendo assim, foi possível iniciar o estudo das funcionalizações das FEM com AuNps para assessorar o GQAQ e outros grupos de pesquisas quando necessitado.

7 CONCLUSÃO

Com o trabalho e o estudo realizados nesta tese, foi possível promover o avanço que pode corroborar a elucidação de preparo e produção das FEM para área de separações analíticas em especial para a ECC.

Foi conseguida a otimização e construção de dois aparatos ou dispositivos que auxiliam de forma adequada a formação da FEM, assim como a pré-funcionalização e a funcionalização.

O DMAP a vácuo foi capaz de preencher a FEM com homogeneidade ou uniformidade, fator primordial para alcançar reprodutibilidade e repetição no preparo e nas análises de colunas monolíticas. Depois de muitos insucessos e erros, mostrados em todas as etapas de produção das FEM, foi possível projetar e otimizar o dispositivo a vácuo. Este possibilitou a constatação de que a repetibilidade no processo de inserção das FEMs no tubo capilar ocorreu de forma precisa, devido aos mesmos perfis dos picos conseguidos nas análises em ECC. Então, foi mostrado o perfil de separação de HPAs com o uso de FEM inseridas com o DMAP a vácuo. Tal perfil se mostrou semelhante aos conseguidos de maneira convencional, indicando que este modo de injeção – DMAP a vácuo- é uma excelente alternativa capaz de contribuir para difusão e expansão da ECC.

Também foi visto que as variações nas condições ambientais do tempo, no modo de estocagem e na temperatura de preparo da solução polimérica, que envolveu a produção das colunas monolíticas não foram interferidas por estes fatores. Por isto, neste trabalho foi observado que o problema estava na inserção da FEM e não nas condições ambientais no momento de formação dos poros. Todavia, este fato permitiu iniciar estudo para avançar no passo do objetivo secundário da produção da FEM funcionalizada com AuNps.

Logo, foi possível realizar as etapas de síntese e caracterização das AuNps, que confirmaram a funcionalização. Assim como ocorreu a mudança de coloração - promovida pelas nanopartículas quando aderidas ao monolito na pré-funcionalização - das FEM. Esta etapa foi conseguida após o uso do mini-forno – segundo dispositivo criado para aquecimento homogêneo da FEM – no momento da pré-funcionalização. Foi abordado que o mini-forno aumentou a concentração de reagente sililante aderido ao

monolito e com isso houve mais facilidade de ligar as AuNps no leito polimérico da FEM promovendo a mudança de cor característica de adesão.

Com o diagnóstico inicial, da coluna monolítica funcionalizada, foi realizada a separação, dos HPAs de forma melhorada – segundo os picos eletrocromatográficos mostrados - em comparação com as FEM sem a funcionalização. Assim sendo, foram conseguidas as primeiras funcionalizações no GQAQ, através deste trabalho, o que poderá permitir o avanço em estudos futuros e até mesmo a produção associada entre os grupos de pesquisa que desenvolvem FEM.

Embora os resultados alcançados nesta pesquisa tenham sido considerados satisfatórios dentro dos objetivos estipulados, faz-se necessária sua repetição em outros contextos que envolvam outras variáveis, e assim possam interferir no processo de produção das FEM e nas separações em CEC.

Em suma, o sucesso alcançado é muito importante face à limitação encontrada em alguns grupos de pesquisas que referenciam a técnica eletrocromatográfica. Segundo EELTING, 2006, o controle no preparo da FEM pode proporcionar, já que confere a uniformidade dos poros, que a ECC seja usada constantemente em análises de rotina nos laboratórios, indústrias e pesquisas.

Por fim, este trabalho pode ser uma contribuição importante para pesquisadores interessados em desenvolver trabalhos empregando ECC.

REFERENCIAS

A. JORGENSON, J. W.; LUKACS, K. D. HIGH-RESOLUTION SEPARATIONS BASED ON ELECTROPHORESIS AND ELECTROOSMOSIS. **J. Chromatogr**, v. 218, n.1, p. 209-216, 1981.

ALOTHMAN, Z. A. Preparation and characterization of alkyl methacrylate capillary monolithic columns. **J. Saudi Chem. Soc.** doi: 10.1016/j.jscs.2011.01.010. 2011.

BANDILLA, D.; SKINNER, D. C.; **J. Chromatogr**, v. 167, n. 2, p. 1004, 2003.

BHATTACHARYA, R., MUKHERJEE, P. "Biological properties of "naked" metal nanoparticles." **Adv. Drug Deliver**, v.60, n.1, p. 1289-1306, 2008.

BAKER, D. R. Capillary Electrophoresis. New York: **Wiley-Interscience**, 1995.

BEDAIR, M.; El Rassi, Z. Recent advances in polymeric monolithic stationary phases for electrochromatography in capillaries and chips. **Electrophoresis**, v. 25. n. 2, p. 4110-4119, 2004.

BELENKII, B. G. Monolithic stationary phases: yesterday, today, and tomorrow. **Russ. J. Bioorg. Chem**, v. 32, n. 1, p. 323-332. 2006.

BERGNA, H.E.; ROBERTS, W.O.; Colloidal Silica: Fundamentals and applications. **CRC Press**: 2006.

BERNABÉ-ZAFÓN, V.; BENEITO-CAMBRA, M.; SIMÓ-ALFONSO, E. F.; HERRERO-MARTÍNEZ, J. M. Comparison on photo-initiators for the preparation of

methacrylate monolithic columns for capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 2, p. 3231-3237, 2010.

BRINKER, C. J.; SCHERER, G. W.; Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing. **CRC Press**: 1990.

CHANG, H. T.; YEUNG, EDWARD, S.; **Electrophoresis**, v. 16, n. 2, p. 2069, 1995.

CHEN, J.-L.; Multi-wall carbon nanotubes bonding on silica-hydrate surfaces for open-tubular capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 2, p. 715, 2010.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. e BONATO, P.S. Introdução a métodos cromatográficos. 5ª ed. Campinas: **Editora da Unicamp**. 1993.

DABEK-ZLOTORZYNSKA, E.; CELO, V.; YASSINE, M. M. Recent advances in CE and CEC of pollutants. **Electrophoresis**, v.1217, n. 2, p. 310-323, 2008.

D.W. ARMSTRONG, B. ZHANG, **Anal. Chem.**, v.73, n. 1, p. 557, 2001.

DING, J.; SZELIGA, J.; DIPPLE, A.; VOUIROS, P. Application of mixed mobile phases and a step gradient method in capillary electrochromatography for the separation of isomeric polycyclic aromatic hydrocarbon-deoxyribonucleoside adduct mixtures prepared in vitro. **Journal of Chromatography A**, v. 781, n.1, p. 327-334. 1997.

DITTMANN, M. M.; ROZING, G. E.; Capillary electrochromatography- a high-efficiency micro-separation technique. **Journal of Chromatography A**, v. 744, n.2, p. 63, 1996.

DULAY, M. T.; QUIRINO, J. P.; BENNETT, B. D.; KATO, M.; ZARE, R. N.;
Photopolymerized Sol-Gel Monoliths for Capillary Electrochromatography. **Analytical Chemistry**, v. 73, n.1, p. 3921, 2001.

EELTINK, S.; DECROP, W. M. C.; ROZING, G. P.; SCHOENMAKERS, P. J.; KOK, W. Th. Comparison of the efficiency of microparticulate and monolithic capillary columns. **J. Sep. Sci.**, v. 27, n. 2, p. 1431-1440, 2004.

FARIA, A. M.; BOTTOLI, C. B. G.; JARDIM, I C S F. Fases estacionarias monoliticas para separacoes cromatograficas. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 300-309, 2006.

FINOTELLI, Priscilla Vanessa. Microcápsulas de Alginato contendo Nanopartículas Magnéticas para Liberação Controlada de Insulina. 2006. Tese de doutorado (Doutorado em Química de materiais) **UFRJ. Instituto de Química. Rio de Janeiro.** 2006.

Frens, G., Nature Physical.**Science**, v. 241, n. 1, p. 20-22, 1973.

GARGUILO, M.; THOMAS, D.; ANEX, D.; RAKESTRAW, D. Laser-induced dispersed fluorescence detection of polycyclic aromatic compounds in soil extracts separated by capillary electrochromatography.**Journal of Chromatography A**, v. 883, n.1, p. 231-248, 2000.

GEISER, L.; EELTINK, S.; SVEC, F.; FRÉCHET, J. M. J. Stability and repeatability of capillary columns based on porous monoliths of poly(butyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate). **J. Chromatogr. A**, v.1140, n.1, p. 140-146, 2007.

G, GOTMAR, T. FORNSTEDT, G. GUIOCHON, apparent and true enantioselectivity in enantioseparations, chirality. **J. Chromatogr. A**, v.12, n. 1, p. 558-564, 2000.

GUSEV, I.; HUANG, XIAN; HORVATH, C. Capillary columns with in situ formed porous monolithic packing for micro high-performance liquid chromatography and capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 855, n. 6, p. 273-290, 1999.

HAIKIA, L.; WANG, J.; WANG, X.; LIN, X.; WU, X.; XIE, Z.; **J. Pharmac.Biomed.Anal**, v. 43,n. 2, p. 352, 2007.

H.-Y. Huang et al. / **J. Chromatogr. A**, v. 1217, n.3, p. 5839–5847, 2010.

HILDER, E. F.; SVEC, F.; FRÉCHET, J. M. J.; Development and application of polymeric monolithic stationary phases for capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1044, n.1, p. 3, 2004.

HUANG, T.; MI, J. Q.; ZHANG, X. X.; **J. Sep. Sci**, v. 29, n.2, p. 277, 2006..

J. OU.; GIBSON, G. T. T.; OLESCHUK, R. D. Fast preparation of photopolymerized poly(benzylmethacrylate-co-bisphenol A dimethacrylate) monoliths for capillary electrochromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 1217, n.1, p. 3628-3634, 2010.

JIANG, T.; JISKRA, J.; CLAESSENS, H. A.; CRAMERS, C. A.; **J. Chromatogr.A**, v. 923, n.1, p. 215 2001.

JINNO, K., SAWADA, H., **Trends Anal. Chem**, v. 19, n. 1, p. 664–675, 2000.

JOCKUSCH, S.; TURRO, N. J.; Phosphinoyl Radicals: Structure and Reactivity. 11773J. **Am. Chem. Soc**, v. 120, n.1, p. 11773-11777, 1998.

JR., I. M. R.; PASQUINI, C.; Espectrofotometria multicanal e arranjos de fotodiodos. **Química Nova**, v. 20, n. 1, p. 83,1997.

KARENGA. S.; EL RASSI, Z.; **Electrophoresis**, v.31, p.3200 -3206, 2010.

KATO, M.; ONDA, Y.; SAKAI-KATO, K.; TOYO'OKA, T.; **Anal. Bioanal. Chem**, v. 386, p. 572, 2006.

KATO, M.; DULAY, M.T.; BENNETT, B.D., QUIRINO, J.P., ZARE, R.N; **J. Chromatogr. A**, v. 924, p. 187, 2001.

KATO, M.; ONDA, Y.; SAKAI-KATO, K.; TOYO'OKA, T.; DULAY, M. T, **J.Chromatogr. A**, v. 961, p. 45, 2002.

KATO, M.; SAKAI-KATO, K.; TOYO'OKA, T. Silica sol-gel monolithic materials and their use in a variety of applications.**J. Sep. Sci.** v. 28, p. 1893–1908, 2005.

KARATAS, Ö., F., SEZGIN, E., AYDIN, Ö., ÇULHA, M. Interaction of gold nanoparticles with mitochondria. **Colloid.Surface B**, v.71, p. 315-318, 2009.

KEATING, C. D.; KOVALESKI, K. M., NATAN, M. J. Protein:colloid conjugates for surface-enhanced Raman scattering: Stability and control of protein orientation. **Journal of Physical Chemistry B**, v.102, p. 9404-9413, 1998.

KOSITARAT, S.; SMITH, N. W.; NACAPRICHA, D.; WILAIRAT, P.; CHAISUWAN, P. Repeatability in column preparation of a reversed-phase C18 monolith and its application to separation of tocopherol homologues. **Talanta**, v. 84, p. 1374-1378, 2011.

LI, W.; FRIES, D. P.; MALIK, A.; Sol-gel stationary phases for capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1044, p. 23, 2004.

LIU, X.; CAO, Y.; CHEN, Y. Separation of conjugated linoleic acid isomers by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.1095, p.197-200, 2005.

LIU, Z.; ZOU, H.; NI, J. Y.; ZHANG, Y.; *Anal. Chim. Acta*, v.73, p. 378, 1999.

LOUGH, W.J. e WAINER, I.W. High Performance liquid chromatography: fundamental principles and practice. **Blackie Academic and Professional**, 1995.

LÜ, H.; WU, X.; XIE, Z.; LIN, X.; GUO, L.; YAN, C.; CHEN, G.; **J. Sep. Sci.**, v. 28, p. 2210, 2005.

MAJORS, R. E.; Stationary-phase technology in separation science. **LC-GC**, v. 1214, 2000.

MALONEY, T. D.; COLÓN, L. A.; **J. Sep. Sci.**, v. 25, p. 1215, 2002.

M. LAMMERHOFER, F. SVEC, J. M. J. FRECHET, W. LINDNER, Separation of enantiomers by capillary electrochromatography, **Trends Anal. Chem.**, v. 19, p. 676–698, 2000.

MORAVCOVÁ, D.; JANDERA, P.; URBAN, J.; Planeta, J. Characterization of polymer monolithic stationary phases for capillary HPLC. **J. Sep. Sci.**, v. 26, p. 1005-1016, 2003.

MURATA, Y.; TONIWA, S.; MIYAMOTO, E.; KAWASHIMA S. Preparation of alginate gel beads containing chitosan salt and their function. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 176, p. 265–268, 1999.

NISCHANG, I.; TEASDALE, I.; BRÜGGEMANN, O. Porous polymer monoliths for small molecule separations: advancements and limitations. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 400, p. 2289-2304, 2011.

N.S. WILSON, J.J. GILROY, J.W. DOLAN, L.R. SNYDER, **J. Chromatogr. A**, v. 1026. p 91, 2004.

NEUE, U. D.; **HPLC Columns, Theory, Technology and Practice, Wiley-VCH: New York, 1997.**

NORTON, D.; ZHENG, J.; SHAMSI, S. A.; Capillary electrochromatography of methylated benzopyrene isomers I. Effect of mobile phase tuning. **Journal of Chromatography A**, v. 1008, p. 205, 2003.

PATERSON, C. J.; BOUGHTFLOWER, R. J. Capillary electrochromatography (CEC). **Handbook of Analytical Separations. Elsevier Science B. V. 1**, p. 107-125, 2000.

PAVEL R; EZANKA SILLE; EHALA; JAKUB KOKTAN.; application of bare gold nanoparticles in open-tubular cec separations of polyaromatic hydrocarbons and peptides., institute of chemical technology, department of analytical chemistry, prague, czech republic. **j. sep. sci.**, v. 35, p.73–78, 2012.

PETERS, E. C.; SVEC, F.; FRÉCHET, J. M. J. Rigid macroporous polymer monoliths. **Adv. Mater.**, v.11, p. 1169-1181, 1999.

PLUEDEMANN EP. Silane coupling agents. **Plenum**, New York, 1991.

PONCE, MARIA DE JESUS SANTA GUTIERREZ. Síntese e caracterização de nova fase monolítica para eletrocromatografia capilar usando método sol-gel. **Campinas, SP**; 2011.

QU, Q. S., ZHANG, X. X., SHEN, M., LIU, Y., HU, X. Y., YANG, G. J., WANG, C. Y., ZHANG, Y. K., YAN, C., **Electrophoresis**, v. 29, p. 901–909, 2008.

RIBEIRO S. P., VAZ S., A. OLIVEIRA. M.A.L.; Construção de um dispositivo de pressurização a vácuo para a preparação de fases estacionárias monolíticas via processo sol-gel. **Quím. Nova**, v. 38, n. 1, p. 132-135, 2015

REZANKA P, ZARUBA K, KRÁL V.; A change in nucleotide selectivity pattern of porphyrin derivatives after immobilization on gold nanoparticles. **Tetrahedron Lett** v. 49, n. 08, p. 099, 2008.

SCHMEER, K.; BEHNKE, B.; BAYER, E.; Capillary Electrochromatography-Electrospray Mass Spectrometry: A Microanalysis Technique. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 20, 1995.

SCHUBERT, U.; HUSING, N.; synthesis of inorganic materials. **Wiley: Weinheim**, 2005.

SEGATO, M. P.; SILVA, C. R.; JARDIM, I.C.S.F. Eletrocromatografia capilar: contextualização, estado da arte e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 431–440, 2009.

SHEDIAC, R.; NGOLA, S. M.; THROCKMORTON, D. J.; ANEX, D. S.; SHEPODD, T. J.; SINGH, A. K.; **J. Chromatogr. A**, v. 925, p. 251, 2001.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T.C. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos .5a. ed., **Guanabara Koogan S.A**, v. 5, p. 93-119, 1999.

SIOUFFI, A.-M.; Silica gel-based monoliths prepared by the sol–gel method: facts and figures. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 801, 2003.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C. B.; Química Orgânica.7 ed. Tradução de W. O. Lin. Rio de Janeiro: **LTC**, v.2, 2002.

SPERLING,R. A., GIL, P. R., ZHANG, F., ZANELLA, M., PARAK, W.J. Biological.; applications of gold nanoparticles. **Chem Soc Rev**. v.37, p. 1896–1908, 2008.

STEVENSON, P. G.; KAYLLO, S.; DENNIS, G. R.; SHALLIKER, R. A.; **J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.** v. 31, p. 324, 2008.

SVEC, F.; HUBER, C. G.; Monolithic materials: promises, challenges, achievements. **Anal. Chem.** v. 78, p. 2101-2107, 2006.

SVEC, F.; PETERS, E. C.; SYKORA, D.; FRÉCHET, J. M. J.; **J. Chromatogr., A**, v. 3, p. 887, 2008.

TAVARES, M. F. M.; Eletroforese capilar: conceitos básicos. **Química Nova**, v.19, n.2, p.173-181, 1996.

TAVARES, I. S.; CARONI, C.; DANTASNETO, A.; PEREIRA, M. R.; FONSECA, J.; Surfacecharging and dimensions of chitosan coacervated nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 90, p. 254 – 258, 2012.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J., *Disc. Faraday Soc.* v. 11, p. 55-75, 1951.

VARUNI SUBRAMANIAM, A LINDSAY GRIFFITHA AND AMANDA J. HAES* A . Varying nanoparticle pseudostationary phase plug length during capillary electrophoresis; *ANALYST*, v. 136, p. 3469-3477, 2011.

VAZ, F. A. S.; **Preparação de Fases Estacionárias Monolíticas em Capilares Revestidos com Poliacrilato para Aplicação em Eletrocromatografia Capilar.** 2007. Dissertação de Mestrado (Mestrado em química analítica). Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2007.

VAZ, F. A.; CASTRO, P.; MOLINA, C. External polyacrylate-coating as alternative material for preparation of photopolymerized sol-gel monolithic column. *Talanta*, v. 76, p. 226-229, 2008.

VAZ, F.; MOUTINHO, A.; MENDONÇA, J. Optimization of photo-polymerized sol-gel monolithic stationary phases prepared in polyacrylate-coated fused-silica capillaries for capillary electrochromatography. *Microchemical Journal*, v. 100, p. 21-26, 2012.

VAZ, F.; QUEIROZ, M.; RIBEIRO, S. Construção de Câmara de Luz Ultravioleta para Fotopolimerização de Fases Estacionárias Monolíticas. *Química Nova*, v. 31, n. 8, p. 2156-2158, 2008.

VITHA, M, P.W. CARR.; *J. Chromatogr. A* p. 1126, v. 143, 2006.

WÄTZIG, H.; KAUPP, S.; GRAF, M.; Inner surface properties of capillaries for electrophoresis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 10, p. 588, 2003.

WILSON, N.S., J.J. GILROY, J.W. DOLAN, L.R. SNYDER.; **J. Chromatogr. A** v. 99, p.1026, 2004.

XIE, M.-J.; FENG, Y.-Q.; DA, S.-L.; MENG, D.-Y.; REN, L.-W.; Capillary electrophoresis and open tubular capillary electrochromatography using a magnesia–zirconia coated capillary. **Analytica Chimica Acta**, v. 428, p. 255, 2001.

Yang, L., Guihen, E., Holmes, J. D., Loughran, M., O'Sullivan, G. P., Glennon, J. D., **Anal. Chem.** v. 77, p. 1840–1846, 2005.

YE FANG-GUI*, LU JUN-YU, WANG YUAN, ZHANG AI-ZHU, TIAN JIAN-NIAO, ZHAO SHU-LIN Key.; Laboratory for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources, Ministry of Education of China, College of Chemistry & Chemical Engineering of Guangxi Normal University, Guilin 541004, China. **Chinese Journal Of Analytical Chemistry**, v. 39, n. 3, 2011.

ZEISBERGEROVÁ, M.; KOST'ÁL, V.; SRÁMKOVÁ, M.; BABICA, P.; BLÁHA, L.; GLATZ, Z.; KAHLE, V.; **J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.** v. 140, p. 841, 2006.

ANEXO

Pespectivas futuras de estudo nesta linha de pesquisa

Para estudos futuros recomenda-se aplicabilidade das FEM produzidas conforme a metodologia usada nessa tese. Assim como, a otimização das FEM pré-funcionalizadas e funcionalizadas para testes, com HPAs e outras matrizes, em eficiência nas separações em ECC.

È possível também, ser almejada a funcionalização com outros compostos, tais como os líquidos iônicos.

A ocorrência de estudos que envolvam a otimização dos equipamentos e reagentes, que fazem parte da produção de FEM, se faz muito necessário, pois podem ajudar na evolução da técnica de ECC.

Então o iminente deverá ser a reprodução no preparo dos poros das FEM o que garantirá não somente a perfeita estrutura monolítica, mas também, a busca por diferentes tipos de separações em usos rotineiros.