



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Desenvolvimento de uma fase estacionária baseada na imobilização
de um polímero fluorado sobre sílica aluminizada para separação de
compostos polares**

Dissertação de Mestrado

ISABELA SAYURI AMBRÓSIO

Orientador

Prof. Dr. ANIZIO MARCIO DE FARIA

Ituiutaba, MG

Janeiro de 2022

ISABELA SAYURI AMBRÓSIO

Desenvolvimento de uma fase estacionária baseada na imobilização de um polímero fluorado sobre sílica aluminizada para separação de compostos polares

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de mestre em Química.

Candidata: **Isabela Sayuri Ambrósio**

Orientador: Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria

Linha de pesquisa: Instrumentação Analítica e Preparo de Amostras

**Ituiutaba, MG
Janeiro de 2022**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

A496 Ambrósio, Isabela Sayuri, 1995-
2022 Desenvolvimento de uma fase estacionária baseada na
imobilização de um polímero fluorado sobre sílica
aluminizada para separação de compostos polares [recurso
eletrônico] / Isabela Sayuri Ambrósio. - 2022.

Orientador: Anizio Marcio de Faria.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.98>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Faria, Anizio Marcio de, 1977-,
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-
graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 336, PPGQUI				
Data:	Trinta e um de janeiro de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	8:45	Hora de encerramento:	10:45
Matrícula do Discente:	11922QMI006				
Nome do Discente:	Isabela Sayuri Ambrósio				
Título do Trabalho:	Desenvolvimento de uma fase estacionária baseada na imobilização de um polímero fluorado sobre sílica aluminizada para separação de compostos polares				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Instrumentação Analítica e Preparo de Amostras				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Cromatografia Líquida de Interação Hidrofílica – Novos Materiais de Separação: Preparação e Aplicações				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Microsoft Teams, link encurtador.com.br/egisQ, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Mariza Campagnolli Chiaradia Nardi, do Centro Universitário Herminio Ometto; João Flávio da Silveira Petrucci, da Universidade Federal de Uberlândia e Anizio Marcio de Faria, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Anizio Marcio de Faria, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Anizio Marcio De Faria, Professor(a) do Magistério Superior**, em 31/01/2022, às 10:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Flávio da Silveira Petrucci, Professor(a) do Magistério Superior**, em 31/01/2022, às 10:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mariza Campagnolli Chiaradia Nardi, Usuário Externo**, em 31/01/2022, às 10:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3281437** e o código CRC **3C2244C9**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por toda força, sabedoria e coragem para seguir os meus sonhos.

Agradeço aos meus pais, principalmente ao meu pai por me proporcionar essa oportunidade, por acreditar me apoiar incondicionalmente em todas as minhas decisões até aqui. Te amo, muito obrigada por tudo!!!!

Ao meu noivo Matheus, por sempre estar ao meu lado, por todo carinho, apoio e amizade nesses tempos difíceis e por nunca me deixar desistir dos meus sonhos, Te amo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria, por toda dedicação em promover e compartilhar seu conhecimento. Pela oportunidade de ter feito meu mestrado com você, meu eterno agradecimento.

Ao meu companheiro de grupo de pesquisa Allyson, por todo companheirismo, amizade e ajuda até aqui, por não me deixar desistir no meio do caminho.

A todos os membros do meu grupo de pesquisa CroMat, Laís, Cinthia, Maria Fernanda, Roberta, Amanda, Giselle, Pablo, Adilson por sempre estarem a disposição para ajudar quando necessário.

As minhas amigas Milena de Lucca, Angelica Damasceno e Beatriz Fernanda, por mesmo de longe, permanecerem ao meu lado em todos esses mais de 10 anos de amizade, por vibrarem comigo na minha vitória e me reerguerem quando preciso, eu amo vocês!!

Aos amigos de laboratório, Marcos, Diele, Ana Clara, Leticia, Cintia, Nayara, Mayara, Poliana, Andressa e tantos outros pelos momentos de descontração e alegria compartilhados.

A todos meus professores do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal- ICENP, por todo os ensinamentos compartilhados, por todas as discussões que contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal, meu muito obrigada. A professora Rosana por sua amizade e carinho comigo.

Ao programa de pós-graduação em Química da UFU pela oportunidade e espaço concedido.

Agradeço à Financiadora de Estudos e Projetos, processos 01.II.0135.00 e 01.I3.0371.00 pelo financiamento da infraestrutura de pesquisa.

A todos que de alguma forma contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente meu muito Obrigada!

RESUMO

A cromatografia líquida é a técnica de análise mais abrangente na quantificação de compostos orgânicos na atualidade, porém suas análises produzem um grande volume de resíduos devido ao uso de solvente orgânico na fase móvel, sobretudo para compostos polares. Adicionalmente, compostos polares apresentam baixa retenção em fases estacionárias tradicionais, C₈ e C₁₈ ligadas quimicamente ao suporte, restringindo maiores aplicações da cromatografia líquida. Uma estratégia para contornar essas limitações tem sido a utilização de polímeros pré-sintetizados imobilizados no suporte cromatográfico, garantindo seletividade finamente ajustada às fases estacionárias de acordo com a estrutura do polímero, além de maior estabilidade química. A preparação de fases estacionárias moderadamente polares e que requerem fases móveis altamente aquosas tem sido objeto de estudos por diversos pesquisadores para separação de compostos polares. Nesse trabalho foram preparadas fases estacionárias a partir da auto-imobilização do poli(metil-3,3,3-trifluorpropilsiloxano) (PMTFS) sobre suporte de sílica aluminizada. A preparação das fases auto-imobilizadas foi realizada durante um período de 180 dias analisando-as periodicamente quanto às características de retenção do material, visando a avaliar a reatividade da superfície do suporte de sílica aluminizada e a obtenção de uma fase estacionária estável e útil na separação de compostos polares. As caracterizações da fase SiAl(PMTFS) indicaram um material constituído de partículas esféricas e livre de aglomerações, mesmo após as incorporações da alumina e do polímero. A presença do polímero fluorado na sílica aluminizada foi confirmada por espectroscopia no infravermelho através de sinais característicos, como os estiramentos entre 1210 e 1449 cm⁻¹, atribuídos às ligações C-F. A estabilidade do material foi avaliada dentro do protocolo produzido pelo grupo de pesquisa, se mostrando altamente estável como já fora observado com outras fases a base de sílica aluminizada. A caracterização cromatográfica foi realizada a partir de misturas testes e protocolos já consolidados na caracterização de novas fases estacionárias, sendo possível verificar que a fase SiAl(PMTFS) atua no modo de fase reversa com uma alta porcentagem de água em sua fase móvel. A fase SiAl(PMTFS) tem potencial para separação de compostos polares gerando menor quantidade de resíduos e apresenta maior estabilidade química.

Palavras-chave: estabilidade química, poli(metil-3,3,3-trifluorpropilsiloxano), auto-imobilização, fase móvel aquosa, fase estacionária fluorada.

ABSTRACT

Nowadays, liquid chromatography is the most comprehensive analytical technique for the quantification of organic compounds. However, their analyzes produce a large volume of toxic residues due to the use of highly organic mobile phase, especially for polar compounds. Furthermore, polar compounds show poor retention in traditional stationary phases, C₈ or C₁₈ chemically bonded, restricting some applications of liquid chromatography. An alternative to overcome these limitations has been the use of immobilized pre-synthesized polymers on an inorganic support, resulting in a finely adjusted selectivity according to the polymer structure, in addition to higher chemical stability. The preparation of moderately polar stationary phases using water-rich mobile phases for the separation of polar compounds has been the object of studies by different researchers. In this work, we prepared stationary phases by self-immobilization of poly(methyl-3,3,3-trifluoropropylsiloxane) (PMTFS) on an aluminized silica support. The stationary phases were self-immobilized for 180 days and were periodically chromatographically analyzed. In this study, the retention properties and the polymer-aluminized silica interaction were evaluated for the useful and stable stationary phase preparation. Physicochemical characterizations indicated that the SiAl(PMTFS) particles were spherical and free of agglomerations even after the incorporation of alumina particles and the self-immobilization of PMTFS. The immobilization of PMTFS on aluminized silica support was confirmed by infrared spectroscopy through signals attributed to the stretching C-F bonds between 1210 and 1449 cm⁻¹. SiAl(PMTFS) phase showed high stability under alkaline conditions using a lab-made protocol, which can be associated with the aluminized silica support. The chromatographic characterization of the SiAl(PMTFS) phase was performed by the separation of test mixtures using consolidated protocols. These separations confirmed that the SiAl(PMTFS) phase acts in a reversed-phase mode but requiring water-rich mobile phases for the separation of polar compounds. Therefore, the SiAl(PMTFS) phase presents good chemical stability and also presents the potential to separate polar compounds, generating less toxic organic residues.

Keywords: chemical stability, poly(methyl-3,3,3-trifluoropropylsiloxane, self-immobilization, aqueous mobile phase, fluorinated stationary phase.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. TIPOS DE GRUPOS SILANÓIS E LIGAÇÃO SILOXANO NA SUPERFÍCIE DA SÍLICA. _____	18
FIGURA 2. ESTRUTURA QUÍMICA DO POLI(METIL-3,3,3-TRIFLUORPROPRILSILOXANO). _____	25
FIGURA 3. FLUXOGRAMA DO PROCESSO SOL-GEL INTRAMICELAR PARA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE ALUMINA. _____	29
FIGURA 4. FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE SÍNTESE DO SUPORTE DE SÍLICA ALUMINIZADA _____	29
FIGURA 5. SISTEMA DE ENCHIMENTO E ESAZIAMENTO DA COLUNA CROMATOGRÁFICA. _____	31
FIGURA 6. ESTRUTURA MOLECULARES DOS COMPOSTOS: (A) URACILA, (B) BENZENO, (C) BENZONITRILA, (D) TOLUENO E (E) NAFTALENO. _____	35
FIGURA 7. ESTRUTURA MOLECULARES DOS COMPOSTOS: (A) URACILA, (B) FENOL, (C) BENZILAMINA, (D) N,N-DIMETILANILINA, (E) TOLUENO E (F) ETILBENZENO. _____	37
FIGURA 8. ESTRUTURAS MOLECULARES DOS COMPOSTOS: METOMIL (A), TIOFANATO METÍLICO (B), CARBOXINA (C), TERBUTILAZINA (D) E DIFENOCONAZOL (E). _____	39
FIGURA 9. MICROGRAFIAS DA SÍLICA (A) E DA FASE SiAL(PMTFS) 180 PREPARADAS COM AMPLIAÇÃO DE (B) 5K E (C) 20K. _____	41
FIGURA 10. ISOTERMA DE ADSORÇÃO E DESSORÇÃO DE N ₂ NA FASE ESTACIONÁRIA SiAL(PMTFS) 180. _____	43
FIGURA 11. ESPECTRO DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DA FASE SiAL(PMTFS) 180 AUTO-IMOBILIZADA EM COMPARAÇÃO COM O ESPECTRO DO SUPORTE SiAL. _____	44
FIGURA 12. DIFRATOGRAMA DA FASE SiAL(PMTFS) 180 _____	46
FIGURA 13. CROMATOGRAMAS DA SEPARAÇÃO DA MISTURA TESTE HIDROFÓBICA COMPOSTA POR (1) URACILA, (2) BENZONITRILA, (3) BENZENO, (4) TOLUENO, (5) NAFTALENO OBTIDAS PELAS FASES SiAL(PMTFS). CONDIÇÕES DE ANÁLISE: FASE MÓVEL ACN:H ₂ O (30:70, v/v); VAZÃO DE 0,3 ML MIN ⁻¹ ; DETECÇÃO EM 254NM. IDENTIFICAÇÃO: (A) SiAL(PMTFS) 15, (B) SiAL(PMTFS) 30, (C) SiAL(PMTFS) 60, (D) SiAL(PMTFS) 90, (E) SiAL(PMTFS) 120, (F) SiAL(PMTFS) 180. ____	47
FIGURA 14. CURVA DE VAN DEEMTER PARA A FASE SiAL(PMTFS) 3. _____	49
FIGURA 15. CROMATOGRAMAS DA SEPARAÇÃO DE ALGUNS COMPOSTOS DA MISTURA-TESTE DE ENGELHARDT E JUNGHEIM PELAS FASES SiAL(PMTFS). CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS: ACN:ACETATO DE AMÔNIO PH 9,00 30:70 (v,v); 0,3 ML MIN ⁻¹ E DETECÇÃO A 254 NM. COMPOSTOS TESTES: (1) URACILA, (2) FENOL, (3) BENZILAMINA, (4) N,N-DIMETILANILINA, (5) TOLUENO E (6) ETILBENZENO. (A) SiAL(PMTFS) 60, (B) SiAL(PMTFS) 90, (C) SiAL(PMTFS) 120 E (D) SiAL(PMTFS) 180. _____	50
FIGURA 16. GRÁFICO RADAR DAS PROPRIEDADES DE RETENÇÃO DAS FASES ESTACIONÁRIAS SiAL(PMTFS) E DE UMA FASE C18 COMERCIAL. _____	55
FIGURA 17. AVALIAÇÃO DA VIDA ÚTIL DA FASE ESTACIONÁRIA SiAL(PMTFS) E DA FASE ESTACIONÁRIA COMERCIAL C ₁₈ . _____	57

FIGURA 18. CROMATOGRAMA DE SEPARAÇÃO DA MISTURA DE AGROTÓXICOS PELA FASE
SIAL(PMTFS) COMPOSTA POR: (1) METOMIL, (2) TIOFANATO METÁLICO, (3) CARBOXINA, (4)
TERBUTILAZINA E (5) DIFENOCONAZOL. CONDIÇÕES DE ANÁLISE: FASE MÓVEL ACN:H₂O (40:60,
V/V), VAZÃO DE 1,2 ML MIN⁻¹ E DETECÇÃO PDA A 230 NM. _____ 58

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. QUANTIDADE DE DIAS DA AUTO-IMOBILIZAÇÃO. _____	30
TABELA 2. MISTURAS TESTES PADRÃO E CONDIÇÕES DE ANÁLISE DO PROTOCOLO DE TANAKA E COLABORADORES. _____	38
TABELA 3. CONDIÇÕES ESTABELECIDAS PARA A DEGRADAÇÃO RÁPIDA DA FASE SiAl(PMTFS). __	38
TABELA 4. PROPRIEDADES MORFOLÓGICAS DAS PARTÍCULAS DE SÍLICA, SÍLICA ALUMINIZADA E DAS FASES ESTACIONÁRIAS SiAl(PMTFS). _____	42
TABELA 5. PORCENTAGEM DE CARBONO EM CADA FASE SiAl(PMTFS) AUTO-IMOBILIZADA. _____	45
TABELA 6. CARACTERIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA DAS FASES SiAl(PMTFS) PELA MISTURA-TESTE DE ENGELHARDT. _____	51
TABELA 7. PROPRIEDADES DE RETENÇÃO CROMATOGRÁFICA OBTIDAS COM A SEPARAÇÃO DAS MISTURAS DE TANAKA PELAS FASES SiAl(PMTFS) E UMA FASE C ₁₈ QUIMICAMENTE LIGADA. _____	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
ASAP	<i>Adsorption analyzer for surface area and porosity</i> (analisador de área superficial específica e porosidade)
BET	Brunauer-Emmett-Teller
BJH	Barret, Joyner e Halenda
C₁₈	Octadecilsilano
C₈	Octilsilano
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i> (Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier)
HILIC	<i>Hydrophilic interaction liquid chromatography</i> (cromatografia líquida de interação hidrofílica)
HPLC	<i>High-performance liquid chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta eficiência)
LC-MS	<i>Liquid chromatography-mass spectrometry</i> (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas)
LEMUP	Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal
MP	<i>Mobile phase</i> (fase móvel)
NP	<i>Normal phase</i> (fase normal)
PALC	<i>Per-aqueous liquid chromatography</i> (cromatografia líquida em fase aquosa)
PDA	Photodiode array detector (detector de fotoarranjo de diodos)
pI	Ponto isoelétrico
PMTFS	Poli(metil-3,3,3-trifluoropropilsiloxano)
RELAM	Rede de Laboratórios Multiusuários da UFU
RP	Reversed-phase (fase reversa)
SEM	<i>Scanning electron microscopy</i> (Microscopia eletrônica de varredura)
SiAl	Suporte de sílica aluminizada
SiAl(PMTFS)	Fase estacionária a base de poli(metil-3,3,3-trifluoropropilsiloxano) imobilizado em suporte de sílica aluminizada
SP	<i>Stationary phase</i> (fase estacionária)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 A SÍLICA COMO SUPORTE CROMATOGRÁFICO	16
1.2 OUTROS SUPORTES CROMATOGRÁFICOS	19
1.2.1 <i>Suportes cromatográficos a base de óxidos mistos</i>	20
1.3 FASES ESTACIONÁRIAS RECOBERTAS COM POLÍMEROS	21
1.3.1 <i>Polímeros fluorados</i>	23
2 OBJETIVOS	26
3 METODOLOGIA	27
3.1 EQUIPAMENTOS	27
3.2 REAGENTES E SOLVENTES	27
3.3 PREPARAÇÃO DA FASE ESTACIONÁRIA SiAl(PMTFS)	28
3.3.1 <i>Ativação da sílica</i>	28
3.3.2 <i>Síntese do suporte cromatográfico de sílica aluminizada</i>	28
3.3.3 <i>Ativação da sílica aluminizada</i>	30
3.3.4 <i>Estudo da auto-imobilização do PMTFS no suporte de sílica aluminizada</i>	30
3.3.5 <i>Extração do PMTFS não imobilizado sobre o suporte de sílica aluminizada</i>	31
3.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FASE SiAl(PMTFS) AUTO-IMOBILIZADA	33
3.4.1 <i>Microscopia eletrônica de varredura</i>	33
3.4.2 <i>Avaliação da área superficial específica e porosidade</i>	33
3.4.3 <i>Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier</i>	34
3.4.4 <i>Análise elementar</i>	34
3.4.5 <i>Difração de Raios-X</i>	34
3.5 AVALIAÇÃO CROMATOGRÁFICA DAS FASES SiAl(PMTFS) AUTO-IMOBILIZADAS	35
3.5.1 <i>Mistura teste hidrofóbica</i>	35
3.5.1.1 <i>Otimização da vazão da fase móvel</i>	35
3.5.2 <i>Mistura-teste de Engelhardt simplificada</i>	36
3.5.3 <i>Mistura de Tanaka e colaboradores</i>	37
3.5.4 <i>Teste de estabilidade da fase SiAl(PMTFS)</i>	38
3.6 AVALIAÇÃO DA APLICABILIDADE DA FASE SiAl(PMTFS)	39
3.6.1 <i>Separação de agrotóxicos</i>	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FASE SiAl(PMTFS) AUTO-IMOBILIZADA	40
4.1.1 <i>Microscopia eletrônica de varredura</i>	40
4.1.2 <i>Análise de área superficial e porosidade da fase SiAl(PMTFS)</i>	41
4.1.3 <i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho</i>	44
4.1.4 <i>Análise elementar</i>	45
4.1.5 <i>Difração de Raio-X</i>	45

4.2 AVALIAÇÃO CROMATOGRÁFICA DAS FASES SIAL(PMTFS)	46
4.2.1 <i>Mistura teste hidrofóbica</i>	46
4.2.1.1 Otimização da composição da fase móvel	46
4.2.1.2 Otimização da vazão da fase móvel	49
4.2.2 <i>Mistura teste Engelhardt simplificada</i>	50
4.2.3 <i>Protocolo de Tanaka e colaboradores</i>	52
4.2.4 TESTE DE ESTABILIDADE DA FASE SIAL(PMTFS)	56
4.3 APLICABILIDADE DA FASE SIAL(PMTFS)	58
4.3.1 <i>Separação de agrotóxicos</i>	58
5 CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1 INTRODUÇÃO

Vários métodos de separação têm sido empregados durante quase toda a história da humanidade. Processos como remoção de contaminantes por filtração em areias ou de excesso de sal por contato com certas folhas encontram-se descritas na Bíblia e em trabalhos gregos e egípcios antigos. Outros métodos de separação, como destilação, extração por solvente e amalgamação foram empregados pelos alquimistas. Os efeitos resultantes da “adsorção” foram descritos no século XVI para um processo de preparação de vinho branco a partir de vinho tinto. No século XIX, alguns cientistas aplicaram diferentes sólidos para a “filtração”, remoção de alguns componentes ou fracionamento de líquidos, enquanto outros fizeram esses fracionamentos em papel. O século XX tem sido chamado de “o século da cromatografia”, uma vez que essa técnica de separação foi altamente importante no desenvolvimento de várias áreas das ciências. No momento, existem indicações que as cromatografias e suas técnicas relacionadas também proporcionarão relevantes contribuições neste século XXI (COLLINS, 2009).

O desenvolvimento da cromatografia líquida moderna como se conhece hoje iniciou-se na década de 1960 por dois grupos de pesquisa liderados por: Csaba Horváth nos Estados Unidos, e Josef Huber na Europa. Esses pesquisadores conduziram estudos voltados para o desenvolvimento de um sistema instrumental de cromatografia líquida hoje conhecida como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *high-performance liquid chromatography*) (NAZARIO; LANÇAS, 2013).

Em muitos laboratórios, a HPLC se tornou uma técnica indispensável, as razões para este crescimento ao longo das últimas décadas devem-se principalmente a sua vasta aplicabilidade e adaptabilidade para a análise de amostras, determinação de constantes físicas e isolamento de componentes de misturas complexas. Atualmente, é uma técnica que se atribui um elevado interesse científico, comercial e nas indústrias químicas, sendo empregada na análise de compostos das mais diversas características, tais como: fármacos, medicamentos, alimentos, polímeros sintéticos, de importância ambiental, entre outras (FARIA; COLLINS; JARDIM, 2009; MALDANER; COLLINS; JARDIM, 2010)

Essa técnica pode ser classificada de acordo com a forma física do sistema cromatográfico, o tipo de fase móvel (MP, *mobile phase*), a fase estacionária (SP, *stationary phase*) e o mecanismo de separação. Dentre as modalidades destacam-se a de fase reversa (RP, *reversed-phase*), fase normal (NP, *normal phase*), troca iônica (IE,

ion-exchange) e, mais recentemente, os modos de: interação hidrofílica (HILIC, *hydrophilic interaction liquid chromatography*) e de fase aquosa (PALC, *per aqueous liquid chromatography*) (FERREIRA, 2018).

Dentro da HPLC, estima-se que a RP-LC (*reversed-phase liquid chromatography*) concentra mais de 85 % das aplicações da cromatografia líquida (BUSZEWSKI; NOGA, 2012). Sistemas de RP-LC consistem em uma fase estacionária de menor polaridade e uma fase móvel de maior polaridade, enquanto a NP-LC (*normal-phase liquid chromatography*) tem as polaridades invertidas. As fases reversas apresentam várias vantagens, tais como: uso de fases móveis menos tóxicas e de menor custo com o uso da água como um dos componentes; fases estacionárias estáveis de muitos tipos diferentes; rápido equilíbrio da coluna após a mudança da fase móvel; facilidade de empregar eluição por gradiente; maior rapidez em análises e boa reprodutibilidade dos tempos de retenção. Além disso, são muito aplicadas à separação de solutos de diferentes polaridades, massas molares e funcionalidades químicas (TONHI *et al.*, 2002).

A ampla utilização da RP-LC está relacionada ao desenvolvimento contínuo de novas SP, cada vez mais seletivas e que promovem separações rápidas e eficientes para uma grande quantidade de compostos. As fases estacionárias tipicamente reversas se caracterizam pela ligação química de cadeias orgânicas não polares, principalmente octadecilsilano (C₁₈) e octilsilano (C₈), sobre a superfície e poros de partículas de um suporte inorgânico de características polares, normalmente a sílica (SANTOS, 2019).

1.1 A sílica como suporte cromatográfico

As fases estacionárias para RP-LC normalmente são compostas de um líquido estacionário sorvido ou ligado quimicamente a um suporte cromatográfico. O material a ser utilizado como suporte, no entanto, necessita de alguns requisitos para que a SP apresente desempenho satisfatório nas separações cromatográficas. Um material ideal, para ser utilizado como suporte deve apresentar as seguintes características (MEYER, 2010):

- ✓ Ser suficientemente poroso, permitindo que o líquido estacionário seja adsorvido nas paredes de seus poros;
- ✓ Diâmetro de poros entre 5 e 100 nm, pois poros muito estreitos tornam difícil a transferência de massa podendo ocorrer efeitos de exclusão de tamanho, enquanto poros muito largos impedem a fixação do líquido estacionário por

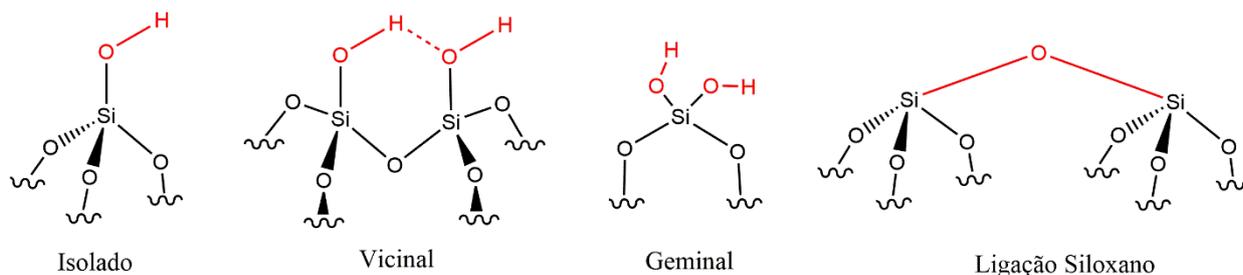
forças capilares e, desta forma, o líquido pode ser removido com a passagem da fase móvel;

- ✓ Alta concentração de grupos ativos em sua superfície, para facilitar a adsorção do líquido estacionário ou a reação de fixação do mesmo;
- ✓ Área superficial suficientemente grande, tipicamente maiores que $10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$;
- ✓ Resistência mecânica elevada, para que o suporte seja capaz de resistir às altas pressões necessárias em RP-LC;
- ✓ Inércia química, para não reagir com os componentes da amostra.

O material utilizado como suporte cromatográfico também deve apresentar um método de síntese das partículas altamente reprodutível e resistir térmica, mecânica e quimicamente à degradação (TRUDINGER; MULLER; UNGER, 1990). Os primeiros materiais empregados como suporte cromatográfico foram os óxidos inorgânicos de silício (SiO_2 – sílica) e de alumínio (Al_2O_3 – alumina). Por mais de 50 anos, a sílica, na sua forma amorfa e esférica, tem sido o material preferido para a preparação das fases estacionárias para RP-LC. Esta ampla utilização está relacionada às suas propriedades altamente favoráveis para aplicações cromatográficas. Dentre as principais características da sílica, podem ser destacadas: alta estabilidade mecânica e térmica, rigidez, eficiência elevada obtida nas separações cromatográficas de diversas substâncias e a facilidade de modificação de sua superfície, devido à presença de grupos hidroxilas (silanóis) altamente reativos (BERTHOD, 1991; BUSZEWSKI *et al.*, 1998; TONHI *et al.*, 2002; VAN DER VOORT; VANSANT, 1996; ZHURAVLEV, 2000).

A sílica contém em sua superfície pelo menos três tipos distintos de grupos ativos, representados na Figura 1, tais como silanóis isolados, vicinais e geminais que conferem ao material uma elevada acidez superficial, além de suas ligações siloxano (BERTHOD, 1991).

Figura 1. Tipos de grupos silanóis e ligação siloxano na superfície da sílica.



Fonte: Próprio autor

As propriedades que fazem da sílica um óxido altamente interessante para a cromatografia líquida são (i) a alta atividade química da sua superfície, essa atividade depende da concentração e distribuição dos diferentes grupos silanóis, e não das ligações de siloxano que apresentam maior estabilidade, e (ii) pela estrutura porosa da sílica (FARIA, 2006).

Apesar da sílica ser o material mais utilizado como suporte cromatográfico na preparação de fases estacionárias, ela possui duas limitações frente a utilização como suporte para RP-LC: a primeira restringe a sua utilização em uma faixa de pH 2 a 8. Em fases móveis de pH < 2, ocorre hidrólise ácida das ligações Si-C entre a superfície da sílica e o material ligado quimicamente. Isto resulta em contínua perda da fase ligada concomitante à perda de retenção cromatográfica dos compostos. Em fases móveis com pH > 8 ocorre rápida dissolução da sílica devido à exposição de parte do suporte ao contato com a fase móvel, formando silicatos solúveis e, conseqüentemente, a clivagem da fase ligada do suporte. A dissolução da sílica leva a uma progressiva e rápida perda de desempenho cromatográfico, produzindo uma lacuna no topo da coluna e uma acentuada queda de pressão no sistema cromatográfico (NAWROCKI *et al.*, 2004).

A segunda limitação refere-se a elevada atividade química da superfície da sílica, se por um lado essa atividade é desejável para a interação com diversas moléculas apolares, proporcionando SP de diferentes seletividades; por outro, é estimado que, por problemas de impedimento estérico, apenas 50 % dos grupos silanóis são capazes de se ligar quimicamente aos modificadores orgânicos, restando um grande número de silanóis residuais. A presença destes grupos residuais nas fases estacionárias afeta o mecanismo cromatográfico de retenção (FARIA, 2006; NAHUM; HORVATH, 1981).

Diante desses dois inconvenientes encontrados, o objetivo dos cromatografistas tem sido o desenvolvimento de materiais de suporte que ofereçam inércia química aos componentes das amostras (redução da atividade residual da superfície de sítios que

não reagiram com os agentes modificadores na síntese de uma nova SP), bem como o aumento da estabilidade química dos suportes cromatográficos (NAWROCKI *et al.*, 2004).

1.2 Outros suportes cromatográficos

Apesar do aparente domínio da sílica como suporte cromatográfico, tem havido várias pesquisas para o desenvolvimento de materiais de suporte alternativos, visando superar as limitações que a sílica apresenta. Uma alternativa encontrada foi a substituição da sílica por óxidos metálicos com estabilidade química em uma faixa de pH mais ampla. Dentre os primeiros materiais empregados como suportes alternativos à sílica, os óxidos de zircônio (zircônia), de titânio (titânia) e de alumínio (alumina) foram os propostos. O óxido que mais se destaca é a alumina por ser amplamente empregado como fase estacionária na NP-LC e tem como vantagem principal a boa estabilidade química em uma faixa ampla de pH, nominalmente de 1 a 13, fato este que a tornou altamente atrativa como substituta à sílica (PESEK; MATYSKA, 2002).

A elevada estabilidade da alumina permite separações cromatográficas em valores de pH nos quais compostos básicos não se encontram na forma ionizada, assim a separação é baseada somente no mecanismo de interação hidrofóbica, sem interferência do mecanismo de troca iônica, uma grande vantagem se comparada às fases a base de sílica. Várias SP baseadas em alumina foram preparadas e comercializadas, seja pela modificação química do suporte ou pelo recobrimento físico das partículas com polímeros orgânicos. A alumina foi investigada como um possível substituto para a sílica na RP-LC, avaliando seu potencial como suporte cromatográfico para fases reversas a partir de reações de modificação da superfície da alumina, através da organossilanização com moléculas de C₁₈ ou da cloração com cloreto de tionila (SOCl₂) seguida de reação com um composto organolítico (PESEK; MATYSKA, 2002). Apesar das SP reversas à base de alumina terem apresentado estabilidade numa faixa de pH mais ampla, em muitos casos as propriedades de retenção não foram significativamente diferentes quando comparadas a materiais similares de sílica. Além disso, o baixo desempenho cromatográfico nas separações obtido com SP baseadas em suportes de alumina aliado à disponibilidade comercial limitada de formas, tamanhos e grau de porosidades das partículas contribuíram para a modesta difusão da alumina como suporte cromatográfico (NAWROCKI *et al.*, 2004, BUCHMEISER, 2001;

NAWROCKI et al., 2004, JARONIEC, JARONIEC, KRUK, 1988). Adicionalmente, a alumina é um óxido anfótero cujas propriedades da superfície dependem fortemente do valor do pH do meio. O valor do pH no qual a carga líquida de uma superfície é zero é conhecido como ponto isoelétrico (pI). O pI da alumina é de 8,23 e a carga da alumina varia quando se vai de pH 7 a 9, torna-se evidente que a superfície da alumina estará carregada positivamente em valores de pH < pI e negativamente carregada quando pH > pI. Sendo assim, o grau de polarização da superfície da alumina irá depender de valores de pH do meio (NAWROCKI et al, 2004; MAO, FUNG, 1997; HODERN, 2004), exigindo um controle ainda mais rigoroso do pH da fase móvel do que para fases a base de sílica.

1.2.1 Suportes cromatográficos a base de óxidos mistos

Suportes cromatográficos baseados em sílica revestidos com camadas de óxido metálico são uma alternativa para obtenção de materiais mais estáveis para HPLC. A estabilidade hidrolítica das fases estacionárias baseadas em sílica revestida com camadas de óxidos metálicos é até cinco vezes maior que a estabilidade de fases semelhantes à base de sílica. Além disso, os suportes de óxidos mistos permitem a manutenção da morfologia e da estrutura porosa da sílica, que são essenciais para produzir fases estacionárias de alta eficiência (SILVEIRA; DIB; FARIA 2014).

Apesar das SP reversas baseadas em alumina apresentarem uma série de dificuldades com relação à modificação de sua superfície, associada à menor reatividade dos seus grupos hidroxilas superficiais (KURGANOV *et al.*, 1994), a alumina apresenta características morfológicas similares às da sílica com estabilidade química em uma faixa mais ampla de pH e, portanto, neste trabalho é proposta a modificação da superfície da sílica com nanopartículas de alumina, através de uma deposição organizada na forma de uma única camada (DUN *et al.*, 2004, SILVEIRA; DIB; FARIA, 2014).

O grande inconveniente no preparo da alumina é o crescimento acelerado e desordenado, além da aglomeração das suas partículas devido à alta reatividade dos reagentes precursores do alumínio (MIRJALILI; HASMALIZA; ABDULLAH, 2010; PARIDA *et al.*, 2009; CHIARADIA, 2005). Para que o crescimento seja limitado e forme partículas com poucos nanômetros de diâmetro, o método sol-gel tem se apresentado como o mais eficaz, para isso todo processo de preparo das partículas deve ser conduzido em um ambiente de menor escala que restrinja o crescimento da partícula de

alumina e evite a aglomeração. O preparo de nanopartículas no interior de micelas de surfactantes é uma opção que tem sido empregada no preparo de nanopartículas metálicas para finalidades catalíticas (RANA; PHILIP; RAJ, 2010; AKPOLAT *et al.*, 2015; JARAMILLO; PAUCAR; GARCÍA, 2014). Desta forma, as micelas de surfactantes funcionam como verdadeiros nano reatores, possibilitando a condução de reações químicas e, em especial, a síntese das nanopartículas de alumina no seu interior que possuem alguns poucos nanômetros de diâmetro. Além disso, o interior da micela de surfactante funciona como um molde para as nanopartículas, definindo o seu formato (SANTOS, 2019).

O método utilizado para a deposição das nanopartículas de alumina sobre as partículas de sílica cromatográfica deve garantir que o material final, sílica aluminizada, seja resistente às pressões e aos solventes, aquosos e orgânicos, empregados em RP-LC. Um método empregado para incorporação de camadas de óxidos sobre a sílica, resultando em um material com excelente estabilidade para a análise cromatográfica, é o método de deposição de camadas auto-organizadas de óxidos (AHMED; MYERS; ZHANG, 2004; GE *et al.*, 2010). Nesse método, independentemente da força de interação entre a alumina e a sílica, as partículas do suporte serão obtidas pela imobilização de um surfactante na superfície da sílica, seguida da incorporação de nanopartículas de alumina no agente tensoativo e subsequente combustão da matéria orgânica. O material final obtido é constituído apenas das nanopartículas de alumina adsorvidas sobre a superfície de microesferas porosas de sílica (DUN *et al.*, 2004; GE *et al.*, 2006; SILVEIRA; DIB; FARIA, 2014).

1.3 Fases estacionárias recobertas com polímeros

Apesar da ampla utilização da RP-LC, as SP quimicamente ligadas possuem considerações estéricas que impossibilitam densas distribuições de cadeias alquilas (C_8 ou C_{18}) no suporte de sílica. Aproximadamente 50 % de grupos silanóis permanecem sem reagir após a síntese de fases estacionárias quimicamente ligadas, resultando em metade da superfície do suporte exposta a interações indesejáveis com solutos e a própria fase móvel (ENGELHARDT; BLAY; SAAR, 2005). Várias pesquisas têm sido desenvolvidas na tentativa de minimizar as interações com os silanóis residuais da sílica, melhorando a estabilidade química e a eficiência das fases estacionárias para que possam ser aplicadas aos mais variados tipos de amostras (VIGNA, 2004). Uma

possibilidade eficiente para contornar as limitações do recobrimento orgânico incompleto da superfície da sílica na preparação de fases estacionárias reversas é a imobilização de camadas orgânicas de polímeros pré-sintetizados sobre a superfície da sílica (JARDIM; COLLINS C; COLLINS K, 2004).

Neste método objetiva-se a formação de uma monocamada polimérica, que englobe toda a superfície do suporte cromatográfico, protegendo os grupos ativos superficiais da interação com componentes da amostra e do contato com a fase móvel (SANTOS, 2019). A preparação da fase recoberta com polímero é realizada a partir da dissolução do polímero em um solvente apropriado seguida da adição das partículas do suporte. O solvente é evaporado de forma estática à temperatura ambiente, obtendo-se a SP cuja camada polimérica está retida por mecanismos de adsorção (fase estacionária auto-imobilizada). A fixação do polímero ao suporte por interações mais fortes pode ser garantida pela inclusão de um tratamento físico sobre a SP auto-imobilizada (JARDIM; COLLINS C; COLLINS K, 2004; CARVALHO *et al*, 2016). Os principais tratamentos empregados para imobilização da camada polimérica sobre o suporte cromatográfico são o tratamento térmico, a irradiação gama e a irradiação por micro-ondas (GAMA, 2017; FARIA, 2006; CARVALHO *et al*, 2016). Dentre esses procedimentos, o tratamento térmico é o mais acessível e mais eficiente, sendo o mais utilizado na preparação de fases estacionárias imobilizadas com polímeros.

Em princípio, as SP recobertas com polímeros combinam as propriedades mecânicas dos óxidos inorgânicos com a inércia química e a seletividade de polímeros orgânicos. Estas SP apresentam uma série de vantagens que as tornam extremamente atrativas para uso em RP-LC, tais como: melhor proteção dos silanóis residuais (sílica) ou de sítios ácidos de Lewis (zircônia, titânia, alumina) comparado às fases estacionárias quimicamente ligadas, evitando interações indesejáveis com componentes da amostra; proteção mais eficaz da matriz do suporte inorgânico contra o ataque químico de fases móveis agressivas; maior facilidade de preparo (GAMA 2017). Além disso, a seletividade da fase estacionária imobilizada por polímero é diretamente influenciada pela quantidade e tipo de grupos funcionais nas cadeias dos polímeros, pela espessura do filme polimérico e pela área superficial e estrutura de poros do suporte (TONHI *et al.*, 2002). A ampla variedade comercial de polímeros com distintas funcionalidades permite a aquisição de materiais de fases estacionárias com ampla faixa de seletividade, tornando possível o ajuste fino da seletividade ao problema analítico de separação (JARDIM *et al.*, 2010).

1.3.1 Polímeros fluorados

Os compostos organofluorados apresentam propriedades únicas, em virtude da presença dos átomos de flúor. Suas propriedades são governadas pela alta eletronegatividade e baixa polarizabilidade do flúor, o que confere um caráter mais iônico na ligação C-F, normalmente ligados à cadeia alquila ou a grupos fenil. Dessa maneira, os compostos organofluorados oferecem maior estabilidade térmica e química, além de promoverem um aumento no caráter dipolar da SP, o que intensifica a interação com compostos polares. Algumas dessas propriedades são exploradas no desenvolvimento de fases estacionárias fluoradas, uma vez que oferecem muitas vantagens em termos de seletividade para misturas complexas comparadas às SP convencionais C₈ e C₁₈ (MALDANER; COLLINS; JARDIM, 2010, FERREIRA, 2014).

O primeiro trabalho sobre SP fluoradas à base de sílica para RP-LC foi publicado no início dos anos 80 por Berendsen e colaboradores (BERENDSEN *et al.* 1980), no qual foi preparada uma SP a base de heptadecafluorodecil dimetilsilila (HFD, *heptadecafluorodecyl dimethylsilyl*) que foi comparada com as SP n-propil e n-decil, na separação de compostos fluorados e não fluorados. O resultado deste estudo mostrou que a SP fluorada apresentou maior interação com os compostos fluorados que as SP não fluoradas. Estes resultados despertaram o interesse em investigar estas SP e uma série de estudos estão sendo realizados em vista da especificidade destas SP, principalmente comparando-as com as não fluoradas (MALDANER; COLLINS; JARDIM, 2010). Algumas das principais diferenças entre as fases fluoradas e não fluoradas foram observadas, como (ZHANG, 2008):

- 1- Os compostos fluorados geralmente têm uma retenção muito mais forte nas fases fluoradas do que nas fases não fluoradas;
- 2- Uma mistura de compostos fluorados pode ser resolvida na fase fluorada de acordo com seu teor de flúor;
- 3- As misturas contendo compostos fluorados e não fluorados podem ser separadas nas fases fluoradas;
- 4- As fases fluoradas melhoraram o desempenho de muitos métodos de cromatografia, incluindo cromatografia de fluido supercrítico, cromatografia micelar, cromatografia de íons, eletrocromatografia e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS, *liquid chromatography-mass spectrometry*);

5- As fases fluoradas geralmente têm reprodutibilidades melhores e tempos de vida mais longos do que as fases não fluoradas.

Já existem algumas fases fluoradas disponíveis comercialmente, como apresentadas na Quadro 1 (FERREIRA 2014).

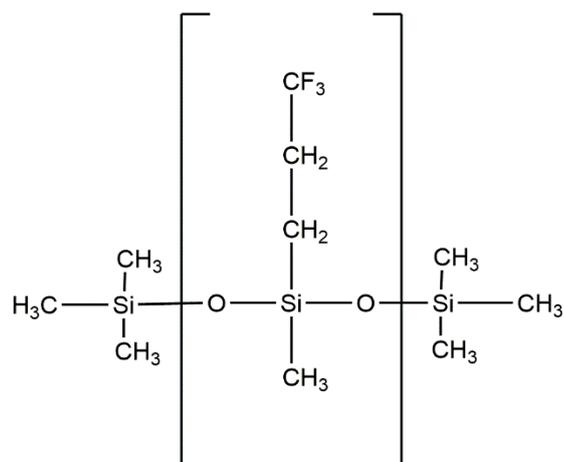
Quadro 1. Fases estacionarias fluoradas comerciais

Marca	Fornecedor	Fase Ligada	Partícula (µm)
Fluorflash	FTI	C ₈ F ₁₇	5
FluorSep-RP Octyl	ES	C ₈ F ₁₇	5
Fluofix	Wako	C ₆ F ₁₃ -ramificada	5
Fluophase RP/WP	Thermo	C ₆ F ₁₃	5
Tridecafluoro	Silicycle	C ₆ F ₅	3,5
FluorSep-RP Phenyl	ES	Não especificado	3,5
Fluophase PFP	Thermo	Não especificado	5
Discovery F5 HS	Supelco	Não especificado	3,5
PentaFluorphenyl	Silicycle	Não especificado	Não especificado
FluoroSep-RP Propyl	ES	C ₃ F ₇	5
Fluorchrom	Silicycle	Não especificado	3,5

Os compostos fluorados são preferencialmente retidos em colunas fluoradas, em comparação com as colunas alquila. Esse comportamento é muitas vezes atribuído à intensidade do momento dipolo da ligação C-F ou à baixa polarizabilidade do átomo de flúor. A seletividade das colunas fluoradas comparada com a das colunas alquila pode ser explicada, pelo menos em parte, como consequência da baixa polarizabilidade do ligante flúor. Menor polarizabilidade indica interações via forças dispersivas reduzidas, que mostra como consequência a baixa retenção de composto apolares e maior retenção de compostos fluorados (MARCHAND *et al*, 2005).

Neste trabalho objetiva-se estudar o comportamento cromatográfico de um material de fase estacionária obtido a partir da auto-imobilização do polímero pré-sintetizado poli(metil-3,3,3-trifluoropropilsiloxano) (PMTFS) sobre partículas de sílica aluminizada. Espera-se do material maior seletividade, sobretudo para compostos polares, e maior estabilidade química que SP alquilas (C₈ ou C₁₈) comerciais quimicamente ligadas. A estrutura química do PTMFS está apresentada na Figura 2.

Figura 2. Estrutura química do poli(metil-3,3,3-trifluoropropilsiloxano).



Fonte: Próprio autor

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral desenvolver uma nova fase estacionária para HPLC, baseada na auto-imobilização de uma camada de poli(metil-3,3,3-trifluorpropilsiloxano) sobre partículas de sílica aluminizada, de maior estabilidade química e de melhor seletividade para compostos polares que as fases quimicamente ligadas a base de cadeias alquilas. Para alcançar esses objetivos, algumas etapas foram delineadas:

- i. Preparar o suporte de sílica aluminizada;
- ii. Estudar a auto-imobilização do poli(metil-3,3,3-trifluorpropilsiloxano) sobre o suporte de sílica aluminizada – SiAl(PMTFS);
- iii. Caracterizar morfológica e físico-quimicamente a nova fase estacionária SiAl(PMTFS) e associar os resultados aos requisitos para materiais de separação cromatográfica;
- iv. Caracterizar cromatograficamente a fase SiAl(PMTFS) através da separação de misturas teste padrão, para determinação das suas propriedades de retenção, e;
- v. Aplicar a fase SiAl(PMTFS) produzida na separação de misturas de compostos polares.

3 METODOLOGIA

3.1 Equipamentos

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Cromatógrafo a Líquido Waters e2695, com sistema de detecção de arranjo de diodos modelo 2998 PDA, gerenciado pelo software Empower3®. Localizado no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal da Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM) da Universidade Federal de Uberlândia.
- Microscópio eletrônico de varredura TESCAN modelo VEGA3 LMU (Brno, República Tcheca). Localizado no Laboratório Multiusuários do Instituto de Química/UFU.
- Analisador de poros e área superficial específica ASAP da Micromeritics, modelo ASAP 2020PLUS. Localizado no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal - RELAM/UFU.
- Espectrofotômetro de absorção no infravermelho Jasco modelo FTIR 4100 (Tóquio, Japão). Localizado no Laboratório de Instrumentação do Curso de Química do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal/UFU.
- Analisador elementar, PerkinElmer, modelo Series II 2400 (Norwalk, CT, EUA). Localizado no Laboratório Multiusuários do Instituto de Química/UFU.
- Difrátômetro Bruker D8 Discover, Localizado no Laboratório Multiusuários do Instituto de Química/UFU.

3.2 Reagentes e solventes

Para a preparação, caracterização e aplicações das fases estacionárias deste trabalho foram utilizados: ácido nítrico, P.A. 65 % (Carlo Erba, Milão, Itália); água ultrapurificada a 18,3 Ω cm; acetato de n-butila P.A (Dinâmica, Diadema, São Paulo); benzilamina 99 % (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil); butilbenzeno 99,5 % (Sigma Aldrich); cafeína 98 % (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil); clorofórmio grau espectroscópico, 99 % (Tedia, Rio de Janeiro, Brasil); fenol 99,5 % (Vetec); isooctano, P.A. 99 % (Dinâmica, Diadema, São Paulo); isopropóxido de alumínio, P.S. 99,5 % (Vetec); metanol grau HPLC, 99,5 % (Tedia); o-terfenilo 99 % (Sigma Aldrich); pentilbenzeno

99 % (Sigma Aldrich); poli(metil-3-3-3-trifluorpropilsiloxano) (Gelest Inc., Morrisville, PA, EUA); sílica cromatográfica Kromasil, partículas de 5 µm de diâmetro (AkzoNobel, Bohus, Suécia); surfactante Na(AOT), bis-2-etilexilsulfossuccinato de sódio 99,9 % (SigmaAldrich); tolueno grau espectroscópico (Tedia); trifenileno 98 % (Sigma Aldrich); uracila 99 % (Sigma Aldrich); acetato de amônio (Dinâmica); fosfato de potássio monobásico (JT Baker, Xalostoc, México); fosfato de potássio dibásico (JT Baker).

3.3 Preparação da fase estacionária SiAl(PMTFS)

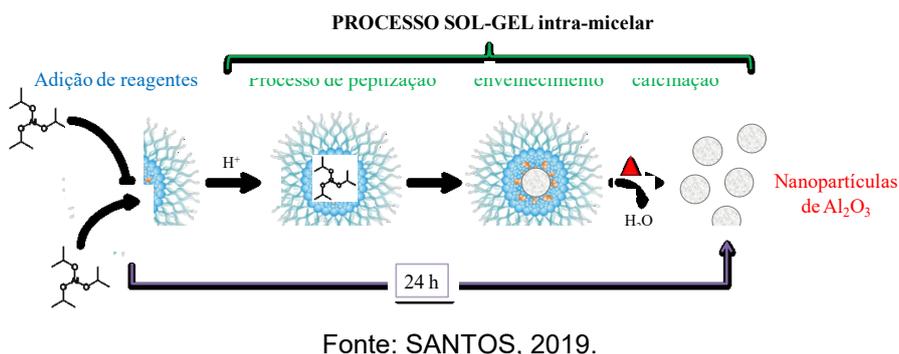
3.3.1 Ativação da sílica

Inicialmente, realizou-se a ativação dos sítios ativos das partículas de sílica cromatográfica através da dessorção de moléculas de água de sua superfície. Foram pesados 1,500 g de sílica cromatográfica de 5 µm em um béquer, que foi coberto por papel alumínio previamente furado, para liberação do vapor de água. Em seguida, com o auxílio de uma mufla, a sílica cromatográfica foi aquecida a 140 °C por 12 h. Após esse período, o béquer contendo a sílica cromatográfica foi colocado em um dessecador sob vácuo e deixado em repouso até sua utilização.

3.3.2 Síntese do suporte cromatográfico de sílica aluminizada

Inicialmente foi realizada a síntese das nanopartículas de alumina através do processo sol-gel em micelas reversas do surfactante bis-2-etilexilsulfossuccinato de sódio – Na(AOT) (SILVEIRA; DIB; FARIA, 2014). Para a síntese, foi montado um sistema de refluxo contendo uma manta de aquecimento, um balão de fundo redondo e um condensador. Adicionaram-se 36,0 mL de isooctano ao balão de fundo redondo, sob agitação magnética com aquecimento à temperatura de refluxo do isooctano, aproximadamente 100°C. Após 10 minutos, foram adicionadas 2,440 g do surfactante Na(AOT) ao balão de fundo redondo sob agitação magnética. Após a total dissolução do surfactante no meio reacional, foi adicionado 1,00 mL de água Milli-Q ao balão de fundo redondo. Em seguida, foram adicionados 0,250 g de isopropóxido de alumínio. O meio reacional foi mantido sob agitação constante e aquecimento à temperatura de refluxo do isooctano por 2 h. O fluxograma do processo sol-gel realizado para a preparação das nanopartículas de alumina está apresentado na Figura 3.

Figura 3. Fluxograma do processo sol-gel intramicelar para síntese de nanopartículas de alumina.



Após as 2 h de reação, foram adicionados 0,90 mL de uma solução de ácido nítrico $0,021 \text{ mol L}^{-1}$, a fim de peptizar a solução e 1,500 g de sílica cromatográfica previamente ativada. A reação foi mantida por 24 h sob a temperatura de aproximadamente $100 \text{ }^\circ\text{C}$ com agitação constante. Depois das 24 h desligou-se o agitador e o aquecimento, retirando o balão de fundo redondo do sistema e deixando-o reservado até que atingisse a temperatura ambiente. A suspensão contendo a sílica aluminizada foi transferida em quantidades, aproximadamente iguais, a tubos de ensaios previamente limpos e secos, os quais foram centrifugados a 2500 r.p.m. por 3 min, descartando o sobrenadante. Realizou-se a lavagem do material sólido com isooctano, isopropanol, metanol e água, respectivamente, nas mesmas condições citadas anteriormente, sempre descartando o sobrenadante. A etapa de limpeza foi realizada para a remoção do solvente orgânico e o excesso de reagente proveniente da síntese da sílica aluminizada. Para a evaporação da umidade residual, o suporte de sílica aluminizada foi aquecido a 120°C por 12 h em estufa. Passado esse período, o suporte foi transferido para um cadinho de porcelana e calcinado à temperatura de $500 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h com o auxílio de uma mufla, o processo realizado está representado na Figura 4.

Figura 4. Fluxograma do processo de síntese do suporte de sílica aluminizada



3.3.3 Ativação da sílica aluminizada

Inicialmente, os sítios ativos das partículas de sílica aluminizada foram ativados através da dessorção de moléculas de água adsorvidas em sua superfície. Foram pesados aproximadamente 8 g de sílica aluminizada em um béquer, que foi coberto com papel alumínio previamente furado, para liberação da umidade residual. Em seguida, a sílica foi aquecida a uma temperatura de 140 °C por 12 h com o auxílio de uma mufla. Após esse período, o béquer contendo a sílica aluminizada foi transferido para um dessecador sob vácuo e deixado em repouso até alcançar a temperatura ambiente.

3.3.4 Estudo da auto-imobilização do PMTFS no suporte de sílica aluminizada

Foram preparadas fases estacionárias sem qualquer etapa de imobilização após a sorção do polímero ao suporte. Em um béquer foram pesados 9,04 g do polímero PMTFS, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Em seguida, foram adicionados 88 mL de acetato de n-butila, solvente que o polímero apresentou melhor solubilidade, para obter uma solução 10 % (m/v). A solução foi deixada em agitação até a completa solubilização do polímero. Em seguida, foram adicionados 8,0 g de sílica aluminizada (SiAl) previamente ativada à solução. A suspensão foi mantida sob agitação na capela por 3 h, desligando a agitação e mantendo a suspensão em capela até a evaporação completa do solvente (MALDANER, 2010).

Após a evaporação do solvente, o material foi deixado em repouso por 180 dias na capela. Aproximadamente 1,0 g do material sorvido SiAl(PMTFS) foi retirado de forma periódica, Tabela 1, para avaliação do processo de auto-imobilização do PMTFS sob as partículas de SiAl.

Tabela 1. Quantidade de dias da auto-imobilização.

Fase estacionária	Dias
SiAl(PMTFS) 15	15
SiAl(PMTFS) 30	30
SiAl(PMTFS) 60	60
SiAl(PMTFS) 90	90
SiAl(PMTFS) 120	120
SiAl(PMTFS) 180	180

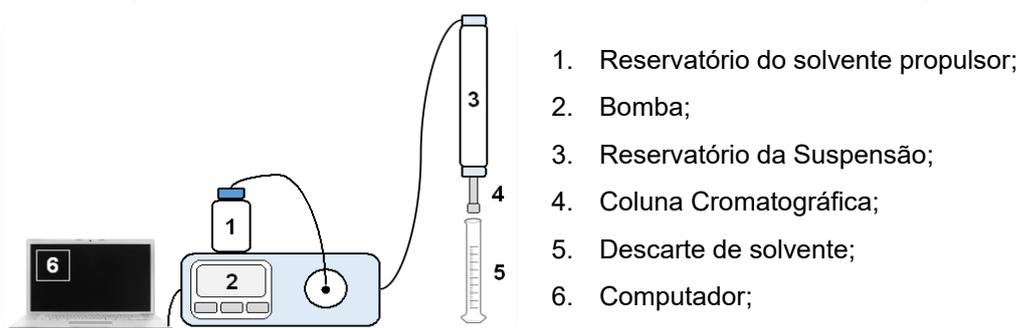
3.3.5 Extração do PMTFS não imobilizado sobre o suporte de sílica aluminizada

Uma quantidade de PMTFS não é imobilizada no suporte de sílica aluminizada, portanto, esse resíduo deve ser removido para que não seja liberado dentro do sistema cromatográfico durante a passagem contínua de fase móvel. Para isso, aproximadamente 1,0 g do material sólido foi adicionado, em porções iguais, a tubos de ensaio previamente limpos e secos. A cada tubo foram adicionados aproximadamente 3 mL de acetato de butila e agitado com o auxílio de um agitador vórtex por 30 s. Os tubos foram levados à centrífuga por 5 min a 2500 r.p.m., descartando-se o sobrenadante. Em seguida, adicionaram-se outros 3 mL de água e repetiu-se o procedimento, por último o material foi lavado com metanol como solvente de limpeza. O material sólido resultante foi seco a 60 °C em estufa por 1 h.

3.3.6 Enchimento da coluna cromatográfica

Para o enchimento de colunas cromatográficas com as fases SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas foi utilizado o método de suspensão a alta pressão (MEYER, 2010). Para o enchimento da coluna cromatográfica foi preparada uma suspensão contendo aproximadamente 1,0 g da fase SiAl(PMTFS) e 20 mL de clorofórmio, garantindo a densidade e a viscosidade apropriada para a formação da suspensão. A suspensão foi deixada em um sistema de rolamento por 1 h, após esse período a suspensão foi transferida para o sistema de enchimento de colunas, apresentado na Figura 5.

Figura 5. Sistema de enchimento e esvaziamento da coluna cromatográfica.



Fonte: Próprio autor.

Para realizar o procedimento, o reservatório do solvente propulsor (1) foi preenchido com metanol previamente filtrado e desgaseificado. Em seguida, a pressão

da bomba (2) foi ajustada para um valor máximo de 9.000 psi, com vazão de solvente de 24 mL min⁻¹. O reservatório de suspensão (3), contendo a coluna cromatográfica de 50 mm × 3,6 mm d.i. (4) devidamente acoplada à sua extremidade, foi preenchido com a suspensão SiAl(PMTFS). O volume do reservatório foi completado com o solvente de suspensão (clorofórmio) devidamente filtrado. Fechou-se a extremidade superior do reservatório de solvente pelo qual foi adicionada a suspensão da SP. Com o sistema todo fechado, a bomba foi ligada, bombeando metanol para o sistema de enchimento, que impulsiona a fase SiAl(PMTFS) para o interior da coluna cromatográfica, compactando-a sob a pressão ajustada. A fase ficou retida na coluna devido à presença de um filtro (diâmetro de poro < 2 µm) na extremidade inferior. O sistema foi mantido sob pressão até a passagem de aproximadamente 80 mL de solvente (5), que foram recolhidos em uma proveta de 100 mL, colocada logo abaixo do sistema de enchimento. Esse volume é equivalente a duas vezes a capacidade do reservatório da suspensão. A manutenção da pressão durante todo o procedimento de enchimento da coluna foi necessária para produzir um recheio homogêneo e uma boa compactação. Finalizado o enchimento, o sistema foi despressurizado e a coluna desconectada do reservatório, fechando apropriadamente sua extremidade superior com um filtro terminal.

3.3.7 Preparação das fases móveis

Para preparação das fases móveis (água, metanol, acetonitrila, K₂HPO₄/KH₂PO₄ a 0,020 mol L⁻¹ a pH 7,0, pH 7,6, pH 2,7 e pH 10,0 e acetato de amônia (CH₃COONH₄) em pH 9,0) foi necessária a filtração de cada solvente individualmente, utilizando-se de um sistema de filtração de fase móvel e uma membrana de Nylon® de 47 mm de diâmetro e 0,22 µm de tamanho de poros. Em seguida, os solventes foram armazenados em frascos separados e desgaseificados com o auxílio de um banho ultrassom por 20 min. Após serem retirados do banho ultrassom, os solventes foram dispostos nos reservatórios para fase móvel do cromatógrafo a líquido.

3.3.8 Condicionamento das colunas cromatográficas

Após o enchimento, as colunas cromatográficas foram conectadas ao cromatógrafo a líquido, realizando-se o condicionamento da coluna. O condicionamento consistiu na passagem de fase móvel MeOH:H₂O na proporção de 50:50 (v/v) por

aproximadamente 2 h. Nesse caso, apenas uma das extremidades da coluna foi acoplada ao cromatógrafo a líquido, enquanto a outra extremidade foi ligada diretamente ao descarte. Esse procedimento foi importante para eliminar os resíduos da etapa de enchimento, evitando o entupimento da cela de detecção do detector de fotoarranjo de diodos (PDA, *photodiode array detector*).

3.4 Caracterização físico-química da fase SiAl(PMTFS) auto-imobilizada

3.4.1 Microscopia eletrônica de varredura

A avaliação morfológica das partículas de PMTFS auto-imobilizado sobre a sílica aluminizada foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (SEM, *scanning electron microscopy*), uma vez que a morfologia das partículas afeta o desempenho das SP no processo de separação, bem como o recheio das colunas cromatográficas. Nessa técnica, as partículas foram fixadas em um porta amostras por uma fita dupla face de carbono. Em seguida, foram recobertas com uma fina camada de ouro, na qual o metal foi bombardeado com átomos de argônio sob alto vácuo por 120 s, para a formação de uma camada de aproximadamente 10 nm de espessura. As imagens das partículas de SiAl(PMTFS) foram obtidas com diferentes ampliações.

3.4.2 Avaliação da área superficial específica e porosidade

As amostras de SiAl(PMTFS) foram submetidas à determinação da área superficial específica, volume e diâmetro de poros (ASAP, *adsorption analyzer for surface area and porosity*). A área superficial específica foi calculada de acordo com o método BET (Brunauer-Emmett-Teller) a pressões relativas (p/p_0) entre 0,05 e 0,30, na qual p e p_0 são, respectivamente, pressões de equilíbrio e pressão de saturação do nitrogênio a -196 °C. O volume total de poros foi determinado pelo método do ponto único, através da conversão do volume de nitrogênio adsorvido na p/p_0 de 0,995 para o volume do adsorbato líquido. O diâmetro médio dos poros foi calculado a partir dos valores de volume total de poros e da área superficial BET (GREGG; SING, 1982), conforme Equação 1.

$$d_p = \frac{4V_p}{S_{BET}}$$

Equação 1

Em que: d_p = diâmetro médio de poros (nm); V_p = volume total de poros ($\text{mm}^3 \text{g}^{-1}$) e S_{BET} = área superficial específica ($\text{mm}^2 \text{g}^{-1}$) obtida pelo método BET.

3.4.3 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier

O polímero PMTFS e as fases estacionárias SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas foram caracterizadas por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, *Fourier Transform infrared spectroscopy*). Cerca de 5 mg de amostra foram empregados na preparação de pastilhas, na proporção aproximada de 1:100 (m/m) com KBr sólido. A mistura foi prensada em um porta-amostras e a pastilha formada foi levada a um espectrofotômetro Jasco modelo FTIR 4100. As medidas foram realizadas na faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e uma taxa de 32 scans min^{-1} .

3.4.4 Análise elementar

Todas as fases SiAl(PMTFS) produzidas foram submetidas à análise elementar para a determinação da percentagem de carbono, após as etapas de auto-imobilização e remoção do polímero não imobilizado. O objetivo dessa medida foi avaliar o grau de recobrimento efetivo do suporte cromatográfico com o PMTFS. O método empregado utiliza a combustão do material devidamente seco, cerca de 10 mg de SP, para converter os elementos da amostra em gases, como CO_2 , H_2O e N_2 . Em seguida, os gases foram despressurizados através de uma coluna, separados e detectados em função das respectivas condutividades térmicas, sendo convertidos em percentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio.

3.4.5 Difração de Raios-X

As medidas de Difração de raios X (XRD, *X-ray diffraction*) foram realizadas em um Difratorômetro Bruker D8 Discover. Utilizou-se radiação monocromática de um tubo com ânodo de cobre acoplado a um monocromador com filtro de níquel Johansson para $K_{\alpha 1}$ operando em 40 kV e 30 mA, configuração BraggBrentano θ - 2θ , detector unidimensional Lynxeye[®], intervalo de 2θ de 5° a 40°, varredura contínua de 2° min^{-1} . As amostras foram mantidas em rotação de 15 rpm durante a medida. Os difratogramas

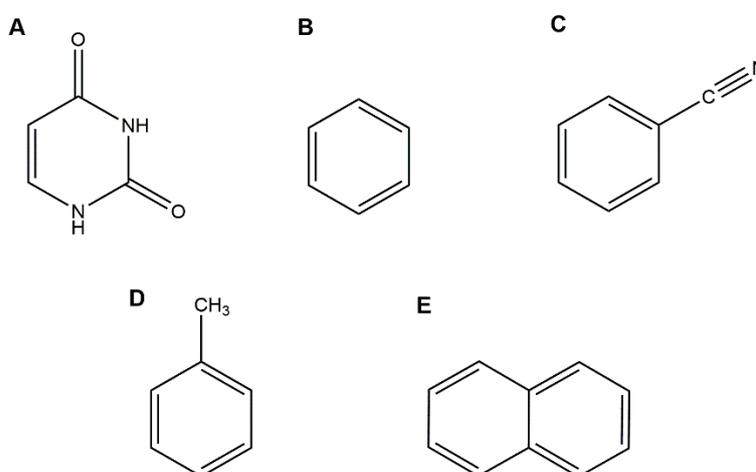
foram separados em um halo representando a contribuição da região amorfa e picos representando as regiões cristalinas da amostra.

3.5 Avaliação cromatográfica das fases SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas

3.5.1 Mistura teste hidrofóbica

A avaliação cromatográfica para determinar o comportamento/modo que a separação é governada pela fase SiAl(PMTFS) foi obtida através das melhores condições da ordem de eluição da mistura teste padrão. Os compostos presentes na mistura foram: uracila, benzeno, benzonitrila, tolueno e naftaleno. As estruturas dos compostos estão apresentadas na Figura 6. Os compostos foram detectados no comprimento de onda de 254 nm e o volume de injeção foi de 20 μ L. Os parâmetros cromatográficos foram obtidos pelo software Galaxie™ ou Empower3®.

Figura 6. Estrutura moleculares dos compostos: (A) uracila, (B) benzeno, (C) benzonitrila, (D) tolueno e (E) naftaleno.



Fonte: Próprio autor.

3.5.1.1 Otimização da vazão da fase móvel

Normalmente, a eficiência de uma coluna usada na HPLC é expressa em número de pratos por metro (N/m), pois desta forma, é possível comparar a eficiência cromatográfica de colunas com diferentes comprimentos. A medida da altura de um prato (H), é uma outra forma de se comparar o desempenho de colunas cromatográficas. H pode ser obtida de acordo com a Equação 2 (MEYER, 2010).

$$H = \frac{L}{N} \quad \text{Equação 2}$$

Em que: L é o comprimento da coluna (μm) e N o número de pratos.

A curva de Van Deemter mostra que existe uma vazão ótima de fase móvel, que relaciona à (H) altura de pratos (μm) com a velocidade linear da fase móvel (μ , cm min^{-1}), calculada a partir da Equação 3, que resulta em um valor máximo de eficiência para a coluna (um valor mínimo de H) (MEYER, 2010).

$$\mu = \frac{F}{\pi \times R^2} \quad \text{Equação 3}$$

Em que: F é a vazão da fase móvel (mL min^{-1}) e R é o raio da coluna cromatográfica (cm).

Neste estudo, para determinar a vazão ótima da fase móvel a ser eluída pela coluna recheada com a fase SiAl(PMTFS), diferentes vazões de fase móvel foram aplicadas na separação da mistura teste padrão pela fase SiAl(PMTFS). A fase móvel empregada foi composta de ACN:H₂O na proporção de 30:70 (v/v), variando a vazão de 0,1 até 1,2 mL min^{-1} e analisando os compostos separados por detecção por arranjo de diodos (PDA) a 254 nm.

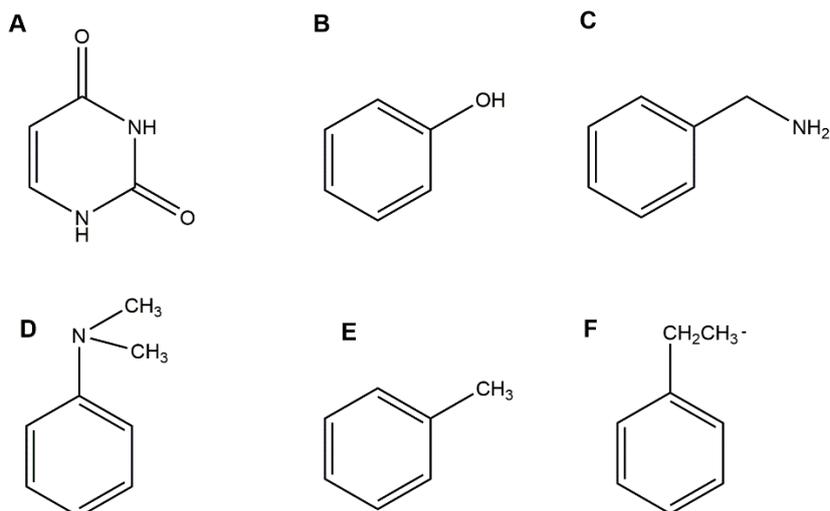
3.5.2 Mistura-teste de Engelhardt simplificada

A mistura-teste simplificada de Engelhardt e Jungheim (ENGELHARDT; JUNGHEIM, 1990) foi utilizada para obter algumas características de retenção da fase SiAl(PMTFS) auto-imobilizada. A mistura é composta por uracila, fenol, N,N-dimetilanilina, tolueno e etilbenzeno, a estrutura dos compostos está apresentada na Figura 7. Para a avaliação da mistura foi empregada uma fase móvel ACN:tampão fosfato 20 mmol L^{-1} a pH 7,0, a uma vazão ótima de 0,3 mL min^{-1} e detecção UV em 254 nm. As principais informações fornecidas por este teste são:

- **Seletividade hidrofóbica:** Esta propriedade é obtida pela razão entre os fatores de retenção do etilbenzeno e do tolueno ($\alpha_{\text{CH}_2} = k_{\text{etilbenzeno}}/k_{\text{tolueno}}$), que diferem entre si por um grupo CH₂, também denominada de seletividade metilênica. O valor de α_{CH_2} fornece informações a respeito da hidrofobicidade das fases estacionárias.

- **Atividade silanofílica:** Medida pelo fator de assimetria do pico da N,N-dimetilanilina a 10 % de sua altura e pela ordem de eluição do composto básico (N,N-dimetilanilina). Para uma coluna de baixa atividade silanofílica, a N,N-dimetilanilina deve ser eluída antes do tolueno e com pico simétrico. (ENGELHARDT; JUNGHEIM, 1990).

Figura 7. Estrutura moleculares dos compostos: (A) uracila, (B) fenol, (C) benzilamina, (D) N,N-dimetilanilina, (E) tolueno e (F) etilbenzeno.



Fonte: Próprio autor.

3.5.3 Mistura de Tanaka e colaboradores

Para realizar uma caracterização cromatográfica mais completa das propriedades de retenção fase SiAl(PMTFS) foram analisadas as misturas do Protocolo teste de Tanaka e colaboradores (KIMATA *et al.*, 1989). O protocolo é constituído por quatro misturas distintas, que são analisadas em diferentes condições de fase móvel. As misturas e suas respectivas condições de análises estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Misturas testes padrão e condições de análise do Protocolo de Tanaka e colaboradores.

Misturas	Compostos	Condições de análise	Propriedades medidas
MT-I	Uracila, Butilbenzeno, Pentilbenzeno, O-terfenila e Trifenileno	MeOH:H ₂ O, 80:20 v/v	(1) Hidrofobicidade (2) Seletividade metilênica (3) Seletividade estérica
MT-II	Uracila, Cafeína e Fenol	MeOH:H ₂ O, 30:70 v/v	(4) Capacidade de ligação de hidrogênio
MT-III	Uracila, Benzilamina e Fenol	MeOH:tampão fosfato 20 mmol L ⁻¹ a pH 7,60, 30:70 v/v	(5) Capacidade de troca iônica total
MT-IV	Uracila, Benzilamina e Fenol	MeOH:tampão fosfato 20 mmol L ⁻¹ a pH 2,70, 30:70 v/v	(6) Capacidade de troca iônica em meio ácido

3.5.4 Teste de estabilidade da fase SiAl(PMTFS)

Para avaliar a estabilidade da fase SiAl(PMTFS) auto imobilizada foi empregado um teste de degradação rápida desenvolvido no Laboratório de Pesquisas em Materiais de Separação e Cromatografia (CroMat) (GOMES; SANTOS; FARIA, 2020). Desta forma, as condições degradantes foram empregadas para avaliar de forma rápida a estabilidade da fase SiAl(PMTFS) e compará-la com uma fase comercial C₁₈ sob as mesmas condições. O método de avaliação consiste na passagem contínua da fase móvel pela coluna cromatográfica recheada com a fase estacionária por 30 minutos (etapa de degradação da fase). Em seguida, é realizada a separação da mistura teste padrão (uracila, benzeno, benzonitrila, tolueno e naftaleno) (etapa de análise). Esse ciclo de degradação e análise foi realizado durante 24 horas. Os parâmetros avaliados foram o número de pratos (N) para o pico do naftaleno, composto mais retido na fase estacionária. As condições experimentais do método de avaliação da estabilidade da fase estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Condições estabelecidas para a degradação rápida da fase SiAl(PMTFS).

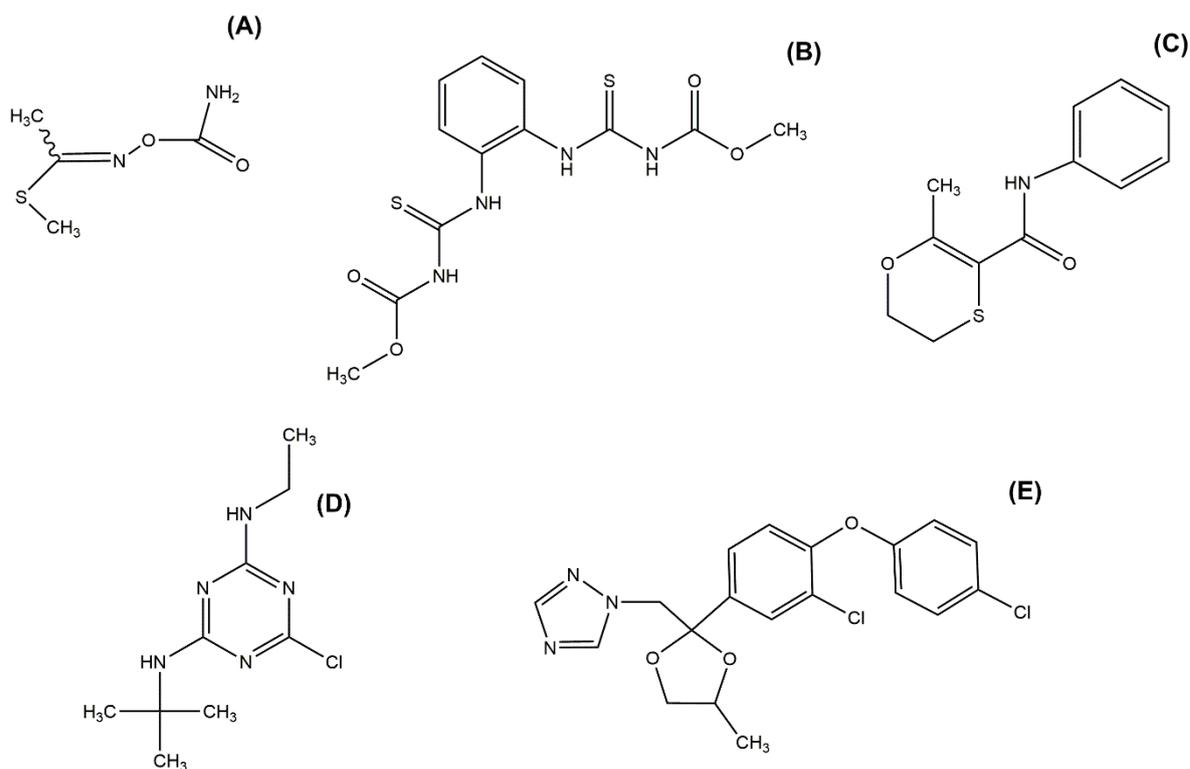
Variáveis	Condições
pH	10
Tampão	Fosfato
Temperatura	45°C
Concentração	25 mmol L ⁻¹
% solvente orgânico	60

3.6 Avaliação da aplicabilidade da fase SiAl(PMTFS)

3.6.1 Separação de agrotóxicos

A aplicabilidade da fase SiAl(PMTFS) para separação de compostos polares foi avaliada na separação de uma mistura de cinco agrotóxicos moderadamente polares. A mistura foi composta por metomil (LogP = 0,3), tiofanato metílico (LogP = 1,4), carboxina (LogP = 2,14), terbutilazina (LogP = 3,21) e difenoconazol (LogP = 4,3) as estruturas dos compostos estão apresentadas na Figura 8. Para a separação da mistura foi empregada fase móvel ACN:H₂O na proporção 4:6 e detecção PDA a 230 nm.

Figura 8. Estruturas moleculares dos compostos: metomil (A), tiofanato metílico (B), carboxina (C), terbutilazina (D) e difenoconazol (E).



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fase SiAl(PMTFS) foi preparada e submetida à caracterização físico-química e morfológica. Os principais objetivos dessa caracterização foram (i) confirmar sua auto-imobilização nas partículas de sílica aluminizada e (ii) avaliar se suas características são compatíveis com as necessidades de separação cromatográfica de compostos polares presentes em misturas. As fases SiAl(PMTFS) foram caracterizadas quanto a morfologia (SEM e ASAP) e estrutura (FTIR e XRD).

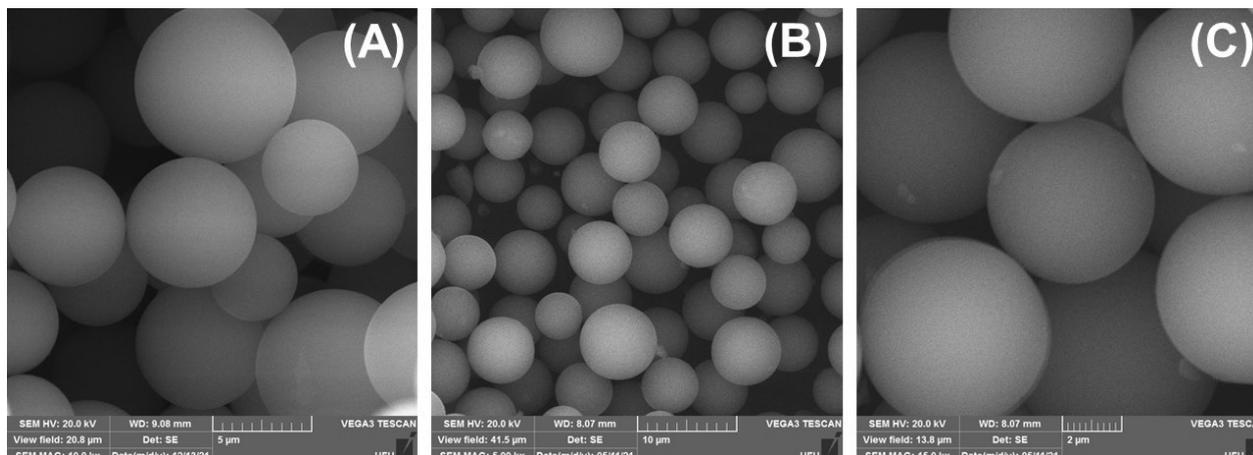
Para melhor identificação das fases SiAl(PMTFS) de acordo com o período de auto-imobilização da camada polimérica, as fases foram referenciadas nesta dissertação com sua sigla previamente definida SiAl(PMTFS), seguida do período em dias deixada em repouso estático (sem agitação) à temperatura ambiente para imobilização do polímero: 15, 30, 60, 90, 120 e 180 dias. Assim, a fase SiAl(PMTFS) 15 se trata da fase estacionária de poli(metil-3,3,3-trifluoropropilsiloxano) auto-imobilizado nas partículas de sílica aluminizada por 15 dias.

4.1 Caracterização físico-química da fase SiAl(PMTFS) auto-imobilizada

4.1.1 *Microscopia eletrônica de varredura*

A microscopia eletrônica de varredura fornece informações importantes sobre a morfologia das partículas que são essenciais para o enchimento de colunas cromatográficas para a cromatografia líquida. Na cromatografia líquida empregam-se colunas recheadas com fases estacionárias particuladas e o melhor desempenho é alcançado quando o empacotamento da coluna é realizado em seu grau máximo de compactação das partículas da SP, ou seja, sem muitos espaços vazios entre as partículas. Essa condição é alcançada com partículas esféricas, regulares e uniformes, dispostas dentro da coluna. Uma micrografia representativa da fase SiAl(PMTFS) 180 auto-imobilizada está apresentada na Figura 9.

Figura 9. Micrografias da Sílica (A) e da fase SiAl(PMTFS) 180 preparadas com ampliação de (B) 5k e (C) 20k.



Pelas micrografias apresentadas na Figura 9B e C é possível observar o aparecimento de pequenos fragmentos após a adição da alumina e do PMTFS sobre as partículas de sílica, esses fragmentos podem ser associados as nanopartículas de alumina presente na SP, porém podemos observar não houve mudança significativa no formato esférico da partícula original da sílica. Não se observa também aglomeração das partículas da fase estacionária. Quanto maior a regularidade das partículas para o recheio das colunas cromatográficas, melhor tende a ser o desempenho cromatográfico, devido à melhor compactação das partículas no interior do tubo de aço inoxidável.

4.1.2 Análise de área superficial e porosidade da fase SiAl(PMTFS)

As fases SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas foram analisadas quanto às suas características de área superficial e porosidade a fim de avaliar as propriedades morfológicas das partículas, bem como o efeito da incorporação das partículas de alumina e da camada de PMTFS. A área superficial foi determinada pelo método BET e a porosidade pelo método BJH (Barret, Joyner e Halenda) (GREGG; SING, 1982), em que as propriedades são avaliadas através da adsorção e dessorção de N₂ nos poros das partículas dentro de uma faixa de pressões relativas. Os resultados obtidos para as fases estacionárias SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas foram comparados com os resultados obtidos para os suportes de sílica e de sílica aluminizada (SANTOS, 2019) e estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4. Propriedades morfológicas das partículas de sílica, sílica aluminizada e das fases estacionárias SiAl(PMTFS).

Fase estacionária	Área superficial específica (m² g⁻¹)	Volume dos poros (cm³ g⁻¹)	Diâmetro de poros (nm)
Sílica	546,2	1,67	12,25
Sílica aluminizada	423,0	0,97	11,12
SiAl(PMTFS) 15	70,4	0,21	12,08
SiAl(PMTFS) 30	50,3	0,14	11,56
SiAl(PMTFS) 60	90,6	0,26	11,59
SiAl(PMTFS) 90	89,0	0,26	11,60
SiAl(PMTFS) 120	117,4	0,33	11,20
SiAl(PMTFS) 180	169,6	0,44	10,31

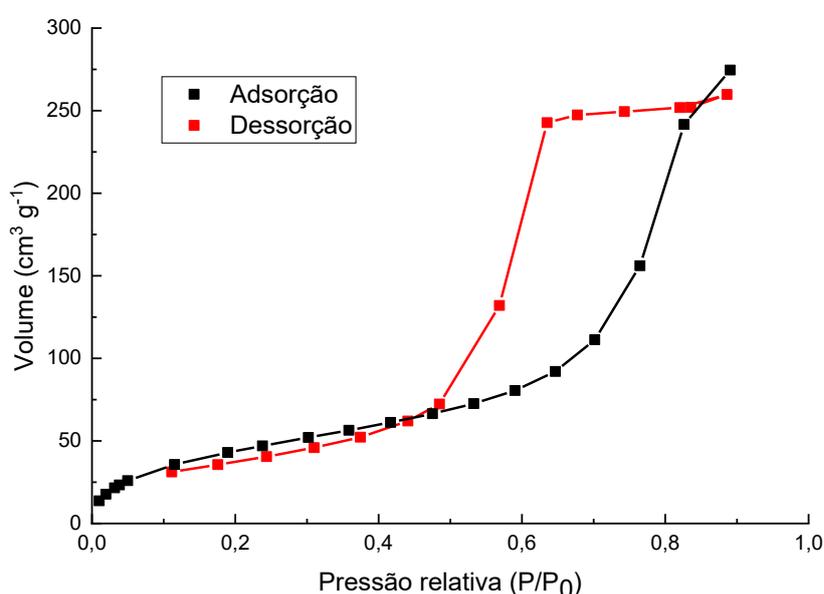
Os resultados da Tabela 4 mostram que o suporte de sílica aluminizada atende aos requisitos necessários para ser utilizado como suporte cromatográfico, uma vez que apresenta área superficial específica maior que 10 m² g⁻¹ e mesoporosidade (MEYER, 2010). Quando comparados os suportes de sílica e de sílica aluminizada, há uma redução significativa do volume de poros de 42 % mostrando que as nanopartículas de alumina se encontram inclusive nos poros das partículas de sílica. Quanto à área superficial específica houve uma redução de 23 % do suporte de sílica aluminizada comparada à da sílica. O mesmo acontece com os diâmetros de poros, apesar de não ter sido tão significativo quanto o volume de poros e área superficial. A diminuição da área superficial específica não é considerada uma desvantagem, quando se leva em consideração as vantagens que a modificação da superfície da sílica com óxido metálico traz ao suporte de sílica aluminizada, como a maior resistência química em condições mais alcalinas (SILVEIRA; DIB; FARIA, 2014).

Após a auto-imobilização do PMTFS sobre o suporte de sílica aluminizada levou a uma redução de 60 % a 90 %, de acordo com o tempo de auto-imobilização, da área superficial da sílica aluminizada, bem como uma diminuição significativa no volume dos poros, entre 55 % a 85 %. Observa-se também que a redução das propriedades morfológicas, em comparação com as propriedades dos suportes de sílica e sílica aluminizada, é maior no início do processo de auto-imobilização e aumenta consideravelmente ao final do período estudado. Uma possível explicação para esse fato pode ser o rearranjo das cadeias poliméricas do PMTFS que vão se acomodando e

espalhando de forma mais uniforme sobre a superfície e poros das partículas do suporte com o tempo, reduzindo a espessura da camada e levando à desobstrução de poros previamente preenchidos com o polímero, completamente preenchidos com o polímero. Esta forte redução das propriedades morfológicas do suporte é uma forte evidência da auto-imobilização do PMTFS.

As propriedades de poros e área superficial específica das fases SiAl(PMTFS) foram obtidas por meio de isoterma de adsorção de nitrogênio a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uma isoterma representativa da medida está apresentada na Figura 10.

Figura 10. Isotherma de adsorção e dessorção de N_2 na fase estacionária SiAl(PMTFS) 180.

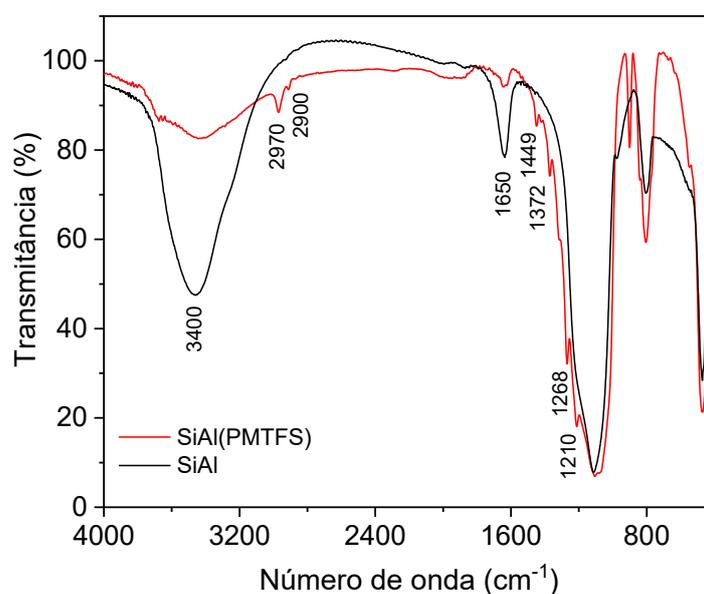


O perfil da isoterma obtida pela adsorção e dessorção do N_2 na fase SiAl(PMTFS) é característico de isotermas do tipo IV. Nas isotermas do tipo IV são observados processos distintos de adsorção e dessorção de N_2 na superfície e poros da fase SiAl(PMTFS) (ALOTHMAN, 2012). Esse tipo de isoterma é característico de materiais mesoporosos, com diâmetro de 2 a 50 nm, confirmando os valores apresentados na Tabela 4. A não sobreposição das isotermas de adsorção e dessorção caracterizam uma histerese do tipo H1, o que define morfológicamente a fase SiAl(PMTFS) com poros regulares, abertos e uniformes de forma cilíndrica, característicos da sílica (TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES; 2001), indicando que não há alteração significativa do formato dos poros com a deposição das nanopartículas de alumina e com a imobilização do PMTFS.

4.1.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A espectroscopia de absorção no infravermelho foi empregada para avaliar a presença dos grupos funcionais característicos do PMTFS nas fases estacionárias auto-imobilizadas. Os espectros de absorção no infravermelho da fase SiAl(PMTFS) e do suporte SiAl estão apresentados na Figura 11.

Figura 11. Espectro de absorção na região do infravermelho da fase SiAl(PMTFS) 180 auto-imobilizada em comparação com o espectro do suporte SiAl.



Através dos espectros apresentados na Figura 11 é possível observar os estiramentos em 2970 e 2900 cm^{-1} atribuídos ao estiramento $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ de grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente. Estes sinais na fase SiAl(PMTFS) é a evidência da presença de material orgânico no suporte de sílica aluminizada e que a única proveniência possível é do polímero. Uma outra evidência da imobilização do polímero PMTFS são os estiramentos em 1210, 1268, 1372 e 1449 cm^{-1} que são referentes as ligações C-F, estiramentos característicos do carbono ligado a 3 átomos de flúor (grupos trifluoropropil da estrutura polimérica) (MALDANER, 2010), confirmando assim que o polímero foi auto-imobilizado nas partículas de sílica aluminizada. Além disso, a SP mantém uma camada de água adsorvida, como pode ser observado pelas bandas em 1650 e 3400 cm^{-1} que são referentes aos estiramentos O-H, esse resultado pode estar relacionado a duas condições: (i) recobrimento incompleto da superfície do suporte; (ii) o PMTFS pode ser capaz de manter moléculas de água adsorvidas na superfície da fase estacionária, mostrando seu caráter polar, que pode ser útil na interação com analitos polares.

4.1.4 Análise elementar

As porcentagens de carbono nas fases SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas foram determinadas através da análise elementar. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Porcentagem de carbono em cada fase SiAl(PMTFS) auto-imobilizada.

Amostra (período de auto-imobilização)	%C	%H	%N
SiAl(PMTFS) 15	8,0	1,18	-0,09
SiAl(PMTFS) 30	9,5	1,37	-0,02
SiAl(PMTFS) 60	11,1	1,57	-0,07
SiAl(PMTFS) 90	10,9	1,53	-0,010
SiAl(PMTFS) 120	11,9	1,60	0,00
SiAl(PMTFS) 180	9,1	1,20	-0,05

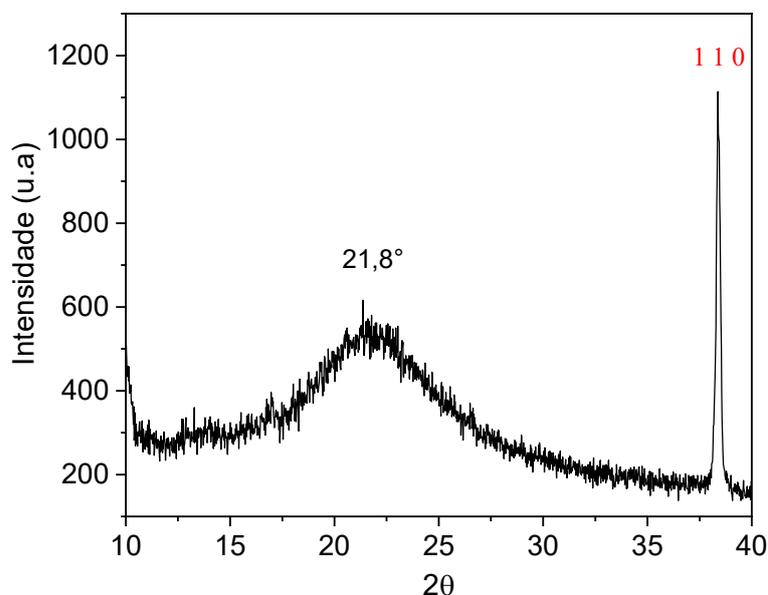
Através dos dados apresentados na Tabela 5 é possível verificar que o PMTFS foi efetivamente imobilizado na superfície da sílica aluminizada, uma vez que todas as fases apresentaram um teor de carbono entre 8,0 e 11,9 %, carbono proveniente exclusivamente do polímero. Para as fases SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas por período de até 60 dias é possível observar um aumento na % C indicando que o polímero está em processo contínuo de auto-imobilização. A partir de 60 dias de auto-imobilização, SiAl(PMTFS) 60, há pequenas variações da % C obtida, indicando assim que o material apresenta um comportamento constante do PMTFS sob o suporte de sílica aluminizada, ocorrendo apenas rearranjos da camada polimérica na superfície e poros das partículas do suporte de sílica aluminizada.

4.1.5 Difração de Raio-X

A quantidade da alumina no suporte cromatográfico de sílica-aluminizada preparado através do processo sol-gel intramicelar, foi avaliada por um trabalho do nosso grupo de pesquisa, onde foi determinada, em média, $3,05 \pm 0,27\%$ m/m de alumina (Al_2O_3) (SANTOS; ASSUNÇÃO; FARIA, 2019).

Para verificar se o lote de sílica aluminizada preparado neste trabalho de fato possuía a alumina no suporte cromatográfico e, conseqüentemente na fase estacionária, foi realizada a análise do material imobilizado a 180 dias por difração de raios X. O difratograma obtido para a fase SiAl(PMTFS) está apresentado na Figura 12.

Figura 12. Difratograma da fase SiAl(PMTFS) 180



Através da Figura 12 observa-se um perfil típico de materiais amorfos de sílica, aspecto confirmado com a presença de um halo que apresenta elevada largura a meia altura centrado em 2θ entre 20 e 22 graus. A presença da alumina pode ser confirmada pelo pico estreito em 2θ igual a $37,7^\circ$, atribuído ao plano cristalino 110 da fase alfa da alumina. Este perfil era o esperado já que a estrutura principal da fase é a base de sílica com pequenos traços de alumina (SANTOS; ASSUNÇÃO; FARIA, 2019).

4.2 Avaliação cromatográfica das fases SiAl(PMTFS)

4.2.1 Mistura teste hidrofóbica

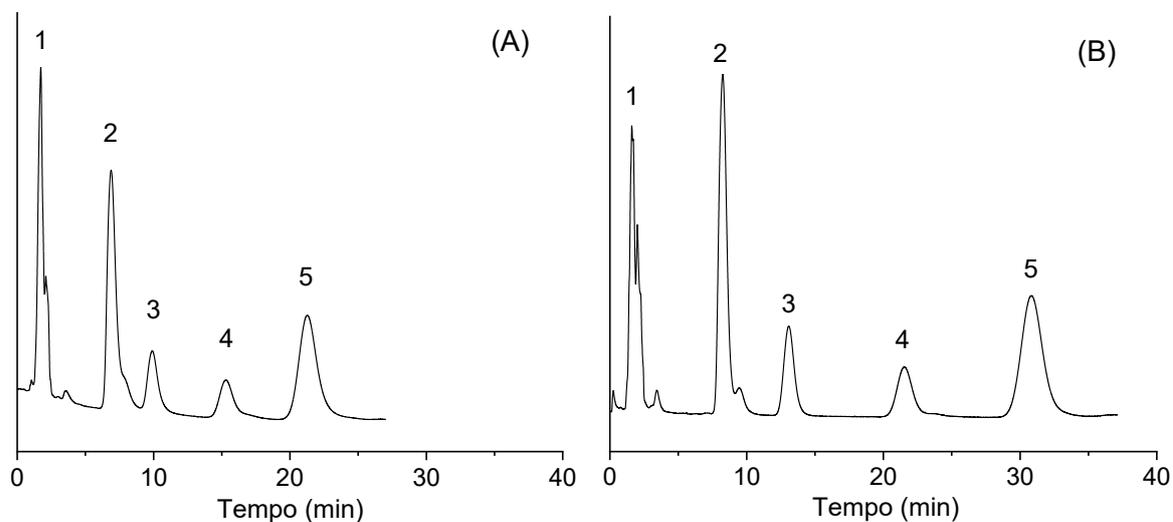
4.2.1.1 Otimização da composição da fase móvel

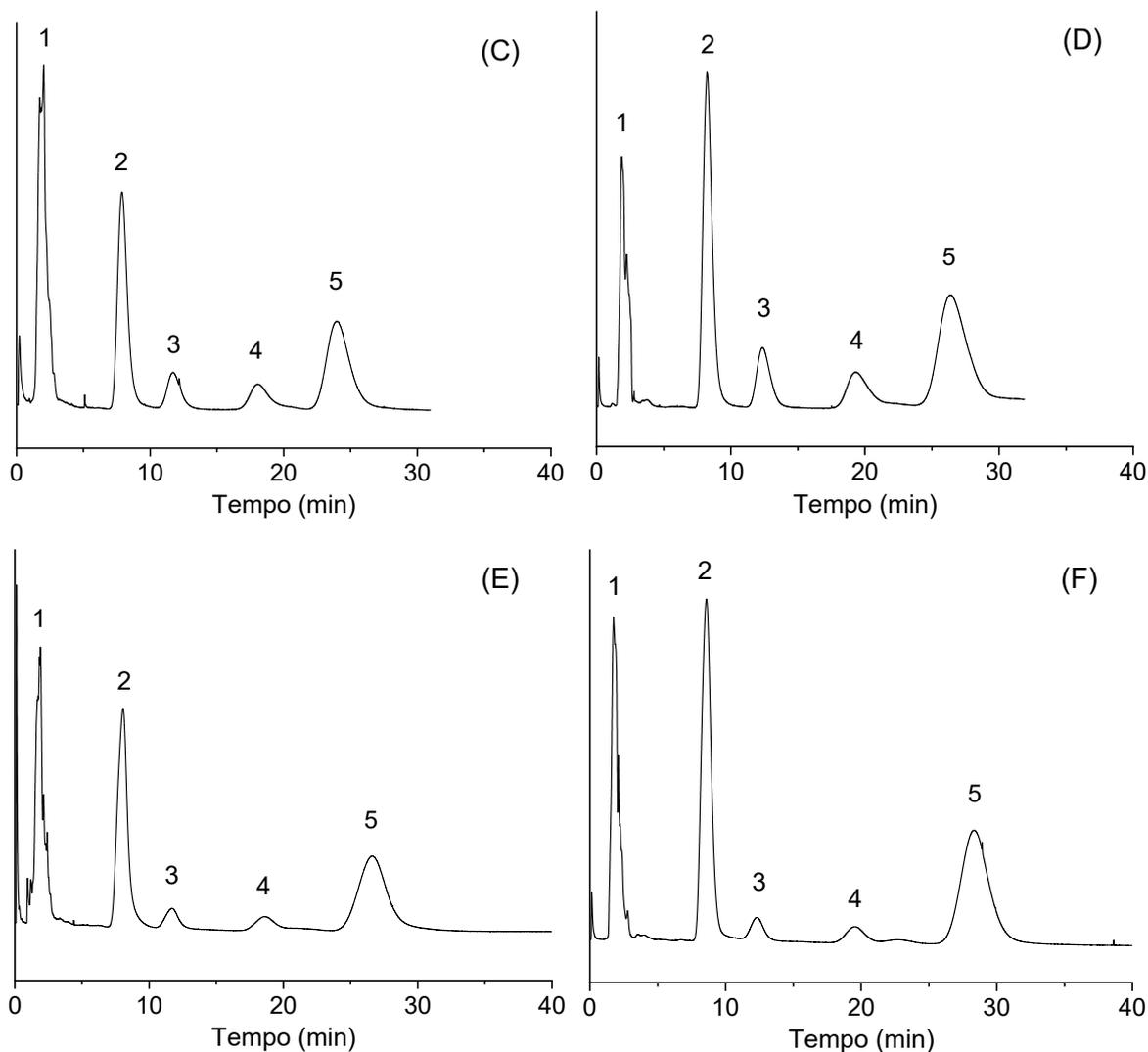
Inicialmente, as fases preparadas SiAl(PMTFS) foram aplicadas na separação de uma mistura teste padrão produzida no laboratório, contendo compostos hidrofóbicos. Essa mistura é normalmente empregada para a caracterização do modo de separação

das fases estacionárias, a partir da ordem de eluição dos compostos, bem como para a otimização das condições de análise requeridas pela fase estacionária. A composição ideal da fase móvel para a análise da mistura na fase SiAl(PMTFS) foi determinada a partir da separação da mistura teste padrão, avaliando diferentes composições de fase móvel ACN:H₂O, porém sempre iniciando os testes com a composição 50:50 (v/v) e ajustadas até a obtenção da melhor separação da mistura a partir da mudança da composição da fase móvel.

Desta forma, a melhor condição de separação obtida para a fase SiAl(PMTFS) foi com ACN:H₂O 30:70 (v/v), com vazão de 0,3 mL min⁻¹ e detecção dos compostos da mistura teste hidrofóbica em 254 nm. Os cromatogramas destas separações para todas as fases SiAl(PMTFS) produzidas no estudo estão apresentados na Figura 13.

Figura 13. Cromatogramas da separação da mistura teste hidrofóbica composta por (1) uracila, (2) benzonitrila, (3) benzeno, (4) tolueno, (5) naftaleno obtidas pelas fases SiAl(PMTFS). Condições de análise: fase móvel ACN:H₂O (30:70, v/v); vazão de 0,3 mL min⁻¹; detecção em 254nm. Identificação: (A) SiAl(PMTFS) 15, (B) SiAl(PMTFS) 30, (C) SiAl(PMTFS) 60, (D) SiAl(PMTFS) 90, (E) SiAl(PMTFS) 120, (F) SiAl(PMTFS) 180.





Através dos cromatogramas apresentados na Figura 13, observa-se que houve a completa separação da mistura teste padrão hidrofóbica, indicando que as fases SiAl(PMTFS) atuam tipicamente na modalidade de fase reversa, uma vez que a ordem de eluição da mistura ocorreu do composto menos hidrofóbico (benzoni-trila) para o mais hidrofóbico (naftaleno). Nesta mistura e nas demais misturas analisadas neste trabalho, foi incluída a uracila como marcador do tempo da fase móvel, ou seja, o tempo que a fase móvel leva para percorrer todo o sistema cromatográfico desde o momento da injeção até a detecção.

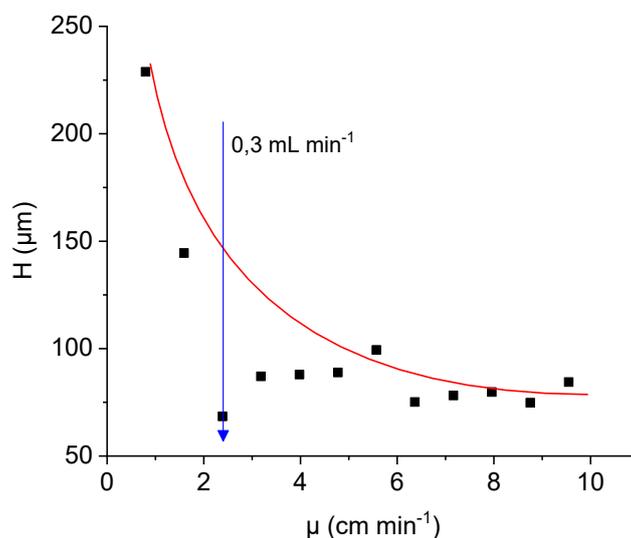
Um dos principais problemas relacionados a RP-LC é a geração de grandes volumes de resíduos orgânicos, devido ao alto consumo de solvente orgânico na fase móvel. Nota-se que uma das principais características observadas nas fases SiAl(PMTFS) é a sua capacidade de separar uma mistura teste tipicamente hidrofóbica com alto teor de água (70 %) em sua composição de fase móvel, minimizando o consumo e geração de resíduos orgânicos nas análises. Característica esta que pode ser atribuída

ao caráter mais polar da fase estacionária. Essa mesma mistura é mais bem separada quando se emprega 80 % de solvente orgânico na fase móvel, ou seja, apenas 20 % de água (FARIA; JARDIM; COLLINS, 2009). Por outro lado, podemos observar que o maior teor de água leva ao alargamento dos picos dos compostos mais hidrofóbicos, em função de sua baixa solubilidade na fase móvel e, conseqüentemente, a taxas mais lentas de transferência de massa.

4.2.1.2 Otimização da vazão da fase móvel

A vazão ótima da fase móvel para análise das fases SiAl(PMTFS) foi determinada com base na curva de Van Deemter, que relaciona a altura de um prato (H) à velocidade linear da fase móvel (μ), empregando ACN:H₂O (30:70, v/v). O ponto mínimo da curva indica a velocidade linear da fase móvel que proporciona a máxima eficiência de separação, portanto a melhor vazão da fase móvel para uma determinada coluna cromatográfica. Os valores de H foram obtidos a partir do pico do naftaleno presente na mistura teste e os valores de μ estão relacionados à vazão da fase móvel. A curva de Van Deemter apresentada na Figura 14, foi obtida através da fase SiAl(PMTFS) 60, com o intervalo de vazão entre 0,1 a 1,2 (mL min⁻¹).

Figura 14. Curva de Van Deemter para a fase SiAl(PMTFS) 3.



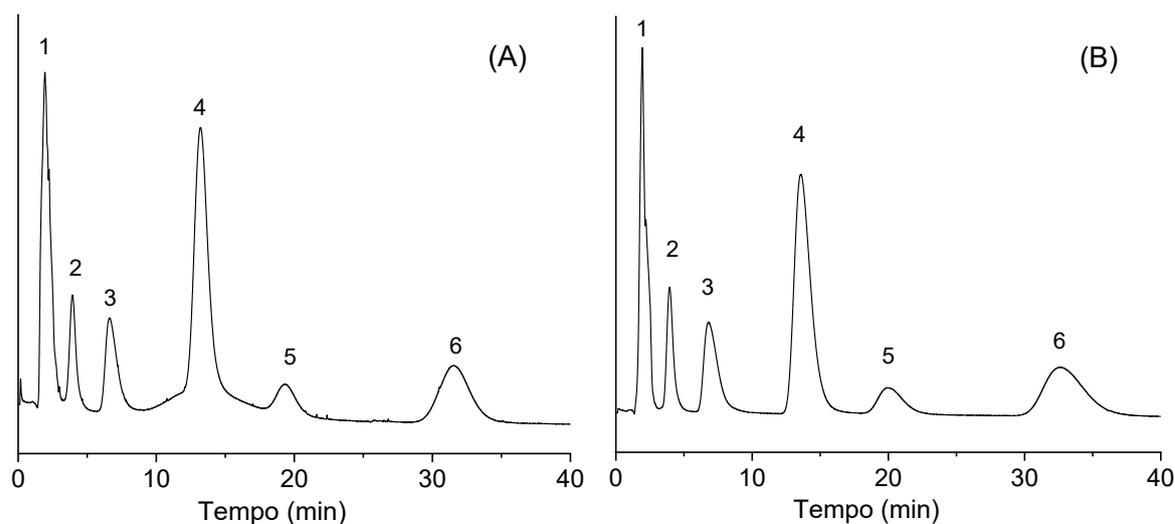
A curva apresentada na Figura 14 mostra que o ponto mínimo é obtido na vazão 0,3 mL min⁻¹ (velocidade linear de 2,4 cm min⁻¹) e apresenta máxima eficiência de coluna e, conseqüentemente, o menor valor de H para a fase SiAl(PMTFS). No entanto, é possível observar uma constância da eficiência a partir desta vazão até 1,2 mL min⁻¹, o

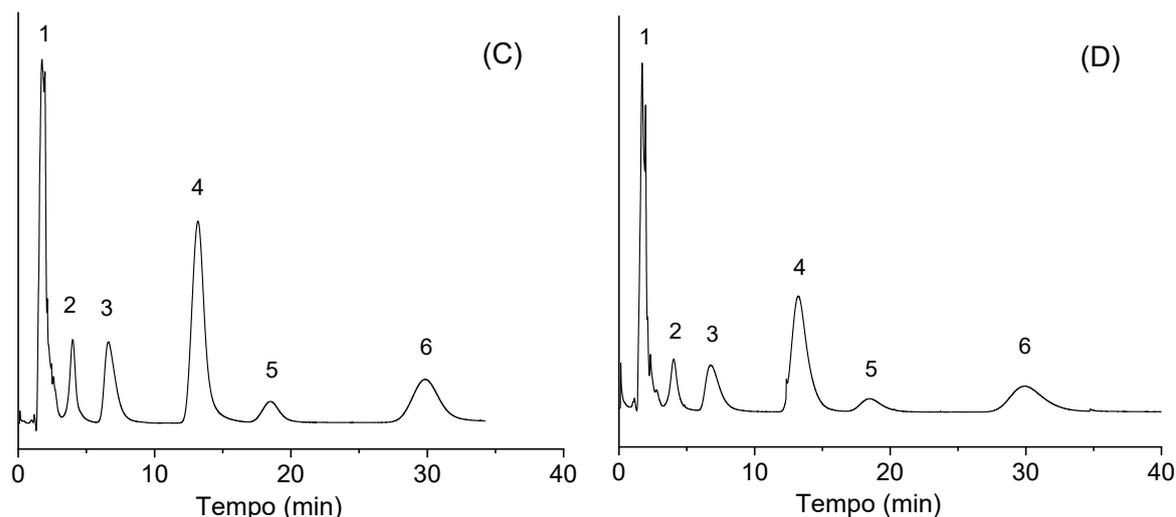
que indica que o aumento da vazão na FE não produz grandes alterações na eficiência da fase SiAl(PMTFS). Assim, qualquer vazão a partir de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ poderá ser adotada para fase móvel em separações empregando a fase SiAl(PMTFS) sem perda significativa de eficiência de coluna. A vazão de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ foi adotada para os demais estudos por possibilitar uma maior resolução dos picos no cromatograma e melhor visualização das propriedades de retenção da fase.

4.2.2 Mistura teste Engelhardt simplificada

As fases estacionárias SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas foram aplicadas na separação de alguns compostos da mistura-teste proposta por Engelhardt e Jungheim (ENGELHARDT; JUNGHEIM, 1990) para a caracterização da atividade silanofílica (atividade dos grupos silanóis residuais), da seletividade hidrofóbica e da hidrofobicidade das fases. As fases SiAl(PMTFS) 15 e 30 não obtiveram boas separações dos compostos e, portanto, não são apresentadas neste trabalho. Os cromatogramas das fases SiAl(PMTFS) 60, 90, 120 e 180 estão apresentados na Figura 15.

Figura 15. Cromatogramas da separação de alguns compostos da mistura-teste de Engelhardt e Jungheim pelas fases SiAl(PMTFS). Condições cromatográficas: ACN:acetato de amônio pH 9,00 30:70 (v,v); $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ e detecção a 254 nm. Compostos testes: (1) uracila, (2) fenol, (3) benzilamina, (4) N,N-dimetilanilina, (5) tolueno e (6) etilbenzeno. (A) SiAl(PMTFS) 60, (B) SiAl(PMTFS) 90, (C) SiAl(PMTFS) 120 e (D) SiAl(PMTFS) 180.





Os cromatogramas apresentados na Figura 15 mostram que em todas as fases a N,N-dimetilanilina foi eluída antes do tolueno, indicando uma baixa atividade silanofílica nas fases SiAl(PMTFS). A atividade silanofílica está relacionada à interação dos grupos ativos superficiais do suporte cromatográfico que, por natureza, apresenta característica ácida, com componentes básicos das misturas. Logo, a baixa atividade silanofílica é indicativo de um bom recobrimento do suporte cromatográfico a partir de 60 dias de auto-imobilização do PMTFS sobre a sílica aluminizada.

Outros parâmetros cromatográficos avaliados pela mistura de Engelhardt foram a hidrofobicidade (medida pelo fator de retenção do etilbenzeno) e a seletividade hidrofóbica das fases SiAl(PMTFS) ($\alpha_{CH_2} = K_{etilbenzeno}/K_{tolueno}$). Estes valores estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6. Caracterização cromatográfica das fases SiAl(PMTFS) pela mistura-teste de Engelhardt.

Fases	α_{CH_2}	$A_{s\ 10}$ (N,N-dimetilanilina)	$K_{etilbenzeno}$	% C
SiAl(PMTFS) 60	1,7	1,2	15,2	11,1
SiAl(PMTFS) 90	1,7	1,6	16,1	10,9
SiAl(PMTFS) 120	1,7	1,2	14,2	11,9
SiAl(PMTFS) 180	1,7	1,4	14,3	9,1

Observa-se que as fases apresentam seletividade hidrofóbica idênticas 1,7, indicando que houve separação total entre o etilbenzeno e o tolueno, uma vez que o α_{CH_2} de uma fase reversa de cadeia linear alquila quimicamente ligada (C₈, C₁₈) apresentam valores dessa ordem quando empregadas fases móveis com 80 % de componente orgânico na fase móvel (EUERBY; PETERSSON, 2003). O $K_{etilbenzeno}$ sofre pequenas

variações ao longo do tempo de auto-imoiblização do PMTFS, indicando uma alta hidrofobicidade da fase SiAl(PMTFS) nas condições de análise com 70 % de componente aquoso na fase móvel. A hidrofobicidade sob condições típicas de fase móvel (80 % de acetonitrila) para o modo de fase reversa indica um fator de retenção para o etilbenzeno de 1,0. Outra medida na fase SiAl(PMTFS) obtida com a mistura de Engelhardt foi o fator de assimetria para o composto básico da mistura, a N,N-dimetilanilina. O valor ideal para o fator de assimetria de um pico fica entre 0,9 e 1,2 (MEYER, 2010), podendo ser considerado como um pico simétrico. O pico simétrico é o indicativo de que as interações ocorrem apenas entre o soluto e a camada da fase estacionária dentro da coluna. Os fatores de assimetria obtidos para o composto básico nas fases SiAl(PMTFS) estão próximos desta faixa, o que confirma os resultados de caracterização físico-química das fases, indicando um bom recobrimento da superfície das partículas de sílica aluminizada a partir de 60 dias de auto-imobilização do PMTFS.

4.2.3 Protocolo de Tanaka e colaboradores

O protocolo de caracterização cromatográfico desenvolvido por Tanaka e colaboradores (KIMATA *et al.*, 1989) é um método bem conceituado para avaliar a qualidade e as propriedades das fases estacionárias, principalmente na modalidade de fase reversa. Este método é utilizado por diversos grupos de pesquisas e fabricantes de fases estacionárias. O protocolo de Tanaka é constituído por quatro misturas testes que devem ser separadas pelas fases estacionárias em estudo, empregando as condições pré-definidas de análise em cada mistura.

Após a separação das misturas, são obtidos os tempos de retenção dos picos para caracterização das propriedades de retenção da fase estacionária e sua capacidade de separar substâncias que se diferem por pequenos grupos funcionais. As propriedades são analisadas através do fator de retenção dos compostos, calculado pela Equação 4.

$$k = \frac{t_{\text{analito}} - t_m}{t_m} \quad \text{Equação 4}$$

Em que: t_{analito} é referente ao tempo de retenção do analito desejado e t_m é o tempo de retenção da uracila

O t_m se refere ao tempo de retenção do primeiro pico no cromatograma, neste caso a uracila, que foi eluída pela fase móvel sem interagir com a fase estacionária.

Dessa forma, esse composto gasta o mesmo tempo que a fase móvel para percorrer o sistema cromatográfico, desde a injeção da amostra até a detecção no sistema de detecção. As propriedades das fases SiAl(PMTFS), medidas pelo protocolo de Tanaka foram:

- **Hidrofobicidade (k_{PB})** – É medida pelo fator de retenção do pentilbenzeno presente na MT I. Este parâmetro indica o grau de hidrofobicidade da fase estacionária, permitindo também inferir sobre o grau de recobrimento da superfície do suporte cromatográfico;
- **Seletividade hidrofóbica (α_{CH_2})** – É medida pela razão entre os fatores de retenção do pentilbenzeno e do butilbenzeno, $\alpha_{CH_2} = k_{PB}/k_{BB}$. Esta é uma medida da capacidade da fase em separar dois compostos que se diferenciam apenas por um grupo CH_2 ;
- **Seletividade estérica ($\alpha_{T/O}$)** – É medida pela razão dos fatores de retenção do trifenileno e da *o*-terfenila, $\alpha_{T/O} = k_T/k_O$. O $\alpha_{T/O}$ mede a capacidade da fase estacionária em separar duas substâncias com polaridade similares, no entanto com diferença em sua geometria e disposição espacial;
- **Capacidade de ligação de hidrogênio ($\alpha_{C/P}$)** – Esta propriedade é obtida pela razão dos fatores de retenção da cafeína e do fenol, $\alpha_{C/P} = k_C/k_P$, presentes na mistura de Tanaka II. O $\alpha_{C/P}$ é uma medida do número de grupo silanóis disponíveis na fase estacionária que estão aptos a formarem ligações de hidrogênio com componentes de amostra;
- **Capacidade de troca iônica total ($\alpha_{B/P \text{ pH } 7,60}$)** – Propriedade medida pela razão dos fatores de retenção da benzilamina e do fenol, $\alpha_{B/P \text{ pH } 7,60} = k_B/k_P$, presentes na mistura de Tanaka III, empregando a fase móvel tamponada em pH 7,60. O valor obtido é uma estimativa da atividade silanofílica total da fase estacionária;
- **Capacidade de troca iônica em meio ácido ($\alpha_{B/P \text{ pH } 2,70}$)** – Propriedade medida pela razão dos fatores de retenção da benzilamina e do fenol, $\alpha_{B/P \text{ pH } 2,70}$, presentes na mistura de Tanaka IV, empregando fase móvel tamponada em pH 2,70. O valor obtido é uma estimativa da acidez dos grupos silanóis residuais presentes na fase estacionária.

Os resultados obtidos a partir da separação dos compostos das misturas testes de Tanaka com relação aos parâmetros cromatográficos nas fases SiAl(PMTFS) auto-imobilizadas estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Propriedades de retenção cromatográfica obtidas com a separação das misturas de Tanaka pelas fases SiAl(PMTFS) e uma fase C₁₈ quimicamente ligada.

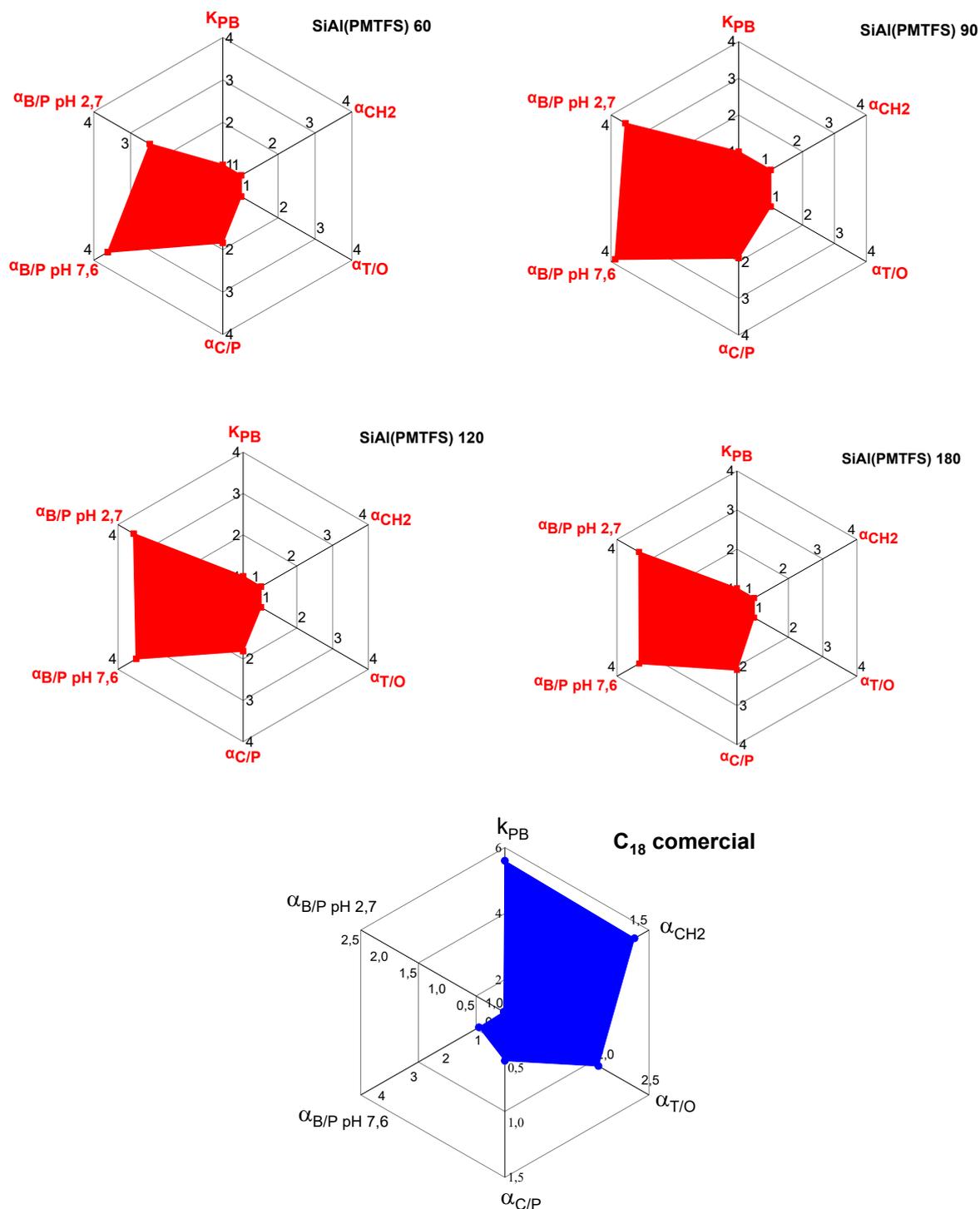
Parâmetros/ Fases	k_{PB}	α_{CH2}	α_{T/O}	α_{C/P}	α_{B/P} pH 7,6	α_{B/P} pH 2,7
SiAl(PMTFS) 60	1,00	1,00	1,00	1,84	3,62	2,48
SiAl(PMTFS) 90	1,00	1,00	1,00	1,90	3,87	3,55
SiAl(PMTFS) 120	1,00	1,00	1,00	1,81	3,49	3,56
SiAl(PMTFS) 180	1,00	1,00	1,00	2,09	3,35	3,36
C ₁₈ comercial	5,60	1,45	2,04	0,44	0,81	0,02

A partir dos valores apresentados na Tabela 7, é possível observar que as fases auto-imobilizadas a partir dos 60 dias apresentam valores de propriedades muito similares entre si, indicando que o fenômeno de auto-imobilização do PMTFS ocorre efetivamente a partir dos 60 dias. Além disso, observa-se que as características de troca iônica, acidez e de formação de ligação de hidrogênio nas fases SiAl(PMTFS) são mais pronunciadas que nas fases comerciais a base de C₁₈ quimicamente ligadas. De certa forma, os valores obtidos eram esperados, uma vez que a fase SiAl(PMTFS) requer maior quantidade de água na fase móvel para melhor separação das substâncias, indicando suas características de interação hidrofílica com os compostos das misturas. Adicionalmente, a presença de íons metálicos no suporte cromatográfico aumenta a acidez da fase, retendo mais fortemente compostos básicos como a benzilamina. Estes resultados, no entanto, podem ser considerados positivos, pois os compostos básicos eluem de forma simétrica, como visto para a N,N-dimetilanilina, indicando a possibilidade de as interações hidrofílicas ocorrerem a partir do grupamento trifluoropropila do polímero com os solutos básicos.

Para avaliar a diferença, no entanto, entre as fases auto-imobilizadas por diferentes períodos se torna mais difícil se forem considerados apenas os valores numéricos dos parâmetros apresentados na Tabela 6. Para facilitar a visualização dessas propriedades e realizar uma análise comparativa, os valores da Tabela 6 foram plotados em gráficos do tipo radar e comparados com os resultados obtidos para valores típicos de fases estacionárias C₁₈ comerciais, também apresentados na forma de gráfico

radar na Figura 16. Os valores dos parâmetros de Tanaka da fase C₁₈ quimicamente ligada foram obtidos da média de 10 colunas comerciais (CRUZ *et al.*, 1997).

Figura 16. Gráfico radar das propriedades de retenção das fases estacionárias SiAl(PMTFS) e de uma fase C₁₈ comercial.



De uma forma geral, nota-se que as fases SiAl(PMTFS) possuem menor hidrofobicidade e menor seletividade hidrofóbica que fases comerciais de C₁₈

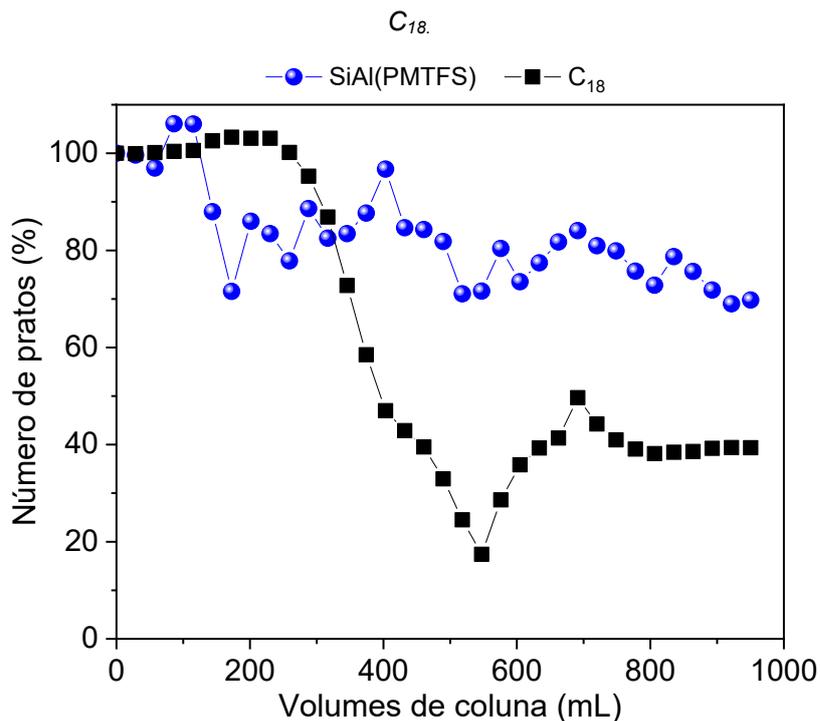
quimicamente ligadas, isso se deve a fase SiAl(PMTFS) possuir uma característica mais polar, requerendo uma fase móvel de menor força cromatográfica (mais água na sua composição) e atuando na modalidade de fase reversa. Porém, as fases SiAl(PMTFS) apresentam maior seletividade para compostos polares, medida pelos parâmetros $\alpha_{C/P}$ e $\alpha_{B/P}$, provavelmente devido à presença do flúor nas fases e devido à influência da alumina no suporte cromatográfico. A maior hidrofobicidade ou maior hidrofiliidade das fases é medida pelo tamanho da área hachurada à direita ou à esquerda, respectivamente, no gráfico radar. Desta forma, observa-se que as fases SiAl(PMTFS) apresentam maior área hachurada do lado esquerdo, enquanto a fase comercial maior área hachurada do lado direito, confirmando a característica de maior polaridade das fases SiAl(MPTFS) auto-imobilizadas.

Através dos dados apresentados é possível indicar que o processo de auto-imobilização do PMTFS sob o suporte de sílica aluminizada foi eficaz produzindo fases estacionárias que atuam na modalidade de fase reversa a partir do 60º dia de auto-imobilização. Apesar de atuar nessa modalidade, a fase SiAl(PMTFS) não apresenta somente caráter hidrofóbico, mas também um caráter hidrofílico, proveniente do PMTFS, que por sua vez possui o átomo de flúor e ligações C-F na estrutura, garantindo assim uma hidrofiliidade à fase SiAl(PMTFS), além, possivelmente, da influência da alumina no suporte cromatográfico.

4.2.4 Teste de estabilidade da fase SiAl(PMTFS)

Algumas condições de análise podem afetar a vida útil das fases estacionárias, tais como: pH da fase móvel (*MP, mobile phase*), temperatura, concentração e tipo de tampão e composição da MP. Estas condições combinadas podem acelerar a degradação da fase estacionária. Empregando o teste proposto por Gomes e colaboradores (GOMES; SANTOS; FARIA, 2020) é possível determinar a vida útil da coluna cromatográfica com menor gasto de solvente e tempo de análise. A Figura 17 apresenta o gráfico de estabilidade da eficiência de coluna para a fase SiAl(PMTFS) 90 e de uma fase C₁₈ a partir da análise da mistura teste hidrofóbica.

Figura 17. Avaliação da vida útil da fase estacionária SiAl(PMTFS) 90 e da fase estacionária comercial



A perda de eficiência que caracteriza a morte de uma coluna cromatográfica, ou seja, o momento a partir do qual a mesma perde todas suas funções de separação é definida quando 50 % da eficiência inicial é perdida com a passagem contínua de fase móvel, estabilidade hidrolítica (FONSECA *et al.*, 2004). Sendo assim, a fase SiAl(PMTFS) foi avaliada empregando condições drásticas de eluição, Figura 17. É possível observar que a morte da coluna recheada com a fase SiAl(PMTFS) 90 não é registrada dentro do período de estudo, definido previamente como 24 h. Após esse período o estudo é encerrado devido ao consumo de tempo de funcionamento do equipamento sob condições drásticas para evitar problemas com seu desempenho e pressão. Comparativamente, uma fase comercial C_{18} típica apresenta perda de 50 % de sua eficiência inicial quando atinge 390 volumes de coluna, indicando que a fase com suporte de sílica aluminizada produzida neste trabalho é mais estável que fase quimicamente ligada típica. Após passada as 24 h (mais de 1000 volumes de coluna) a fase SiAl(PMTFS) 90 apresenta uma queda de 30 % da sua eficiência, indicando que o suporte de SiAl confere à fase SiAl(PMTFS) 90 uma maior estabilidade química diante de condições extremas de pH. Como não conseguimos realizar o teste de estabilidade em comparação com uma fase fluorada comercial, acredita-se que uma contribuição para a maior estabilidade da fase SiAl(PMTFS) está associada à camada polimérica, uma vez que os resultados cromatográficos indicaram um bom recobrimento do suporte

pela camada de PMTFS, evitando o contato da fase móvel alcalina com o suporte cromatográfico.

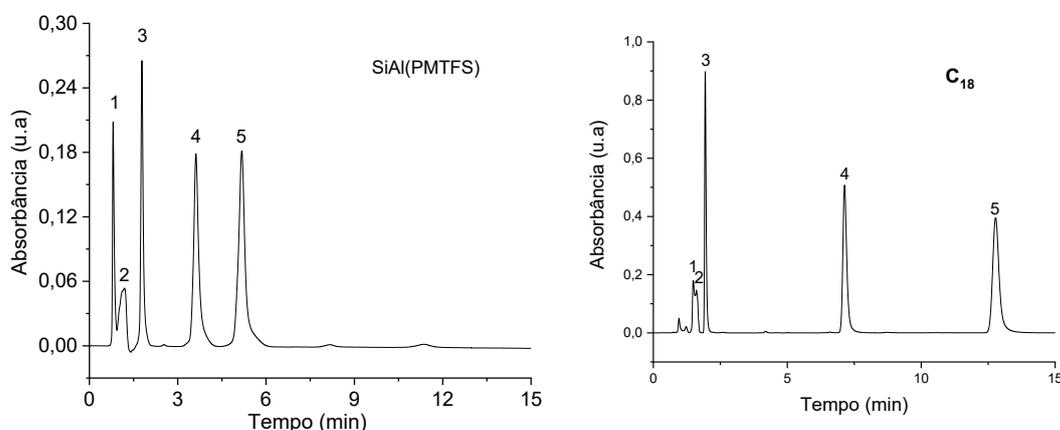
4.3 Aplicabilidade da fase SiAl(PMTFS)

4.3.1 Separação de agrotóxicos

De acordo com as propriedades de retenção apresentadas pela fase SiAl(PMTFS) na caracterização cromatográfica com misturas testes padrão, uma mistura composta por cinco moléculas de agrotóxicos, com características moderadamente polares, foi avaliada usando a fase SiAl(PMTFS) auto-imobilizada. A mistura de agrotóxicos foi constituída do inseticida metomil, os fungicidas carboxina, difenoconazol e tiofanato metílico, e o herbicida terbutilazina. Esses compostos são utilizados principalmente nas culturas de arroz, milho e soja, com aplicações sistêmicas ou foliares. Estes compostos apresentam baixa retenção em fases C_{18} comerciais, pois possuem características moderadamente polares, com LogP entre 0 e 4 (PUBCHEM, 2021).

A mistura de agrotóxicos foi analisada pela fase SiAl(PMTFS) 120 e a melhor condição de fase móvel encontrada foi a ACN:H₂O (40:60, v/v), com vazão de 1,2 mL min⁻¹ e detecção PDA 230nm. O cromatograma dessa separação está apresentado na Figura 18.

Figura 18. Cromatograma de separação da mistura de agrotóxicos pela fase SiAl(PMTFS) e pela fase C_{18} comercial composta por: (1) metomil, (2) tiofanato metílico, (3) carboxina, (4) terbutilazina e (5) difenoconazol. Condições de análise: fase móvel ACN:H₂O (40:60, v/v), vazão de 1,2 mL min⁻¹ e detecção PDA a 230 nm.



Pelo cromatograma da fase SiAl(PMTFS) da separação dos cinco agrotóxicos, apresentado na Figura 18, é possível observar que houve uma separação eficiente dos compostos, com boa retenção para os agrotóxicos mais polares da mistura na fase SiAl(PMTFS). Se compararmos com o cromatograma apresentado da fase C₁₈ comercial é possível observar que a fase SiAl(PMTFS) possui melhor separação dos compostos 1 e 2 da mistura e uma análise mais rápida, de aproximadamente 6 min com elevada porcentagem de água em sua fase móvel. Além disso, a eluição dos picos pode ser considerada simétrica na fase, mostrando potencialidade de aplicação da fase SiAl(PMTFS) auto-imobilizada na separação de compostos de moderada polaridade. A separação dos agrotóxicos corrobora com os resultados obtidos de caracterização da fase SiAl(PMTFS), indicando que a fase possui seletividade para compostos polares devido às interações estabelecidas com grupos trifluoropropila do polímero PMTFS, possibilitando a separação de compostos de baixa retenção em fases comerciais à base de C₁₈. A separação da mistura foi realizada a vazão de 1,2 mL min⁻¹, indicando também que pode-se alcançar separações eficientes e boa resolução entre os compostos com vazões mais elevadas. Não foi possível realizar a comparação da separação da mistura de agrotóxicos com uma fase fluorada comercial, no entanto acredita-se que a auto-imobilização do PMTFS, ocorre de forma efetiva sobre o suporte de sílica aluminizada, garantindo a interação de compostos polares e evitando a sangria de coluna durante a análise.

5 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos foi possível concluir que a auto-imobilização do polímero PMTFS sobre o suporte de sílica aluminizada na forma de uma fina camada se mostrou eficaz já a partir do 60º dia de auto-imobilização, mesmo sem a evidência de formação de ligação química entre grupos ativos da superfície do suporte e do polímero. A caracterização físico-química da fase SiAl(PMTFS) indicou a presença de bandas referentes aos estiramentos C-F confirmando assim a presença do polímero PMTFS sobre as partículas de sílica aluminizada. Através do DRX é possível confirmar a presença da alumina devido a presença de um pico estreito em aproximadamente 38º. A microscopia eletrônica de varredura permitiu constatar que mesmo com as modificações realizadas não houve mudanças significativas no formato das partículas, garantindo assim um melhor empacotamento das partículas da fase estacionária dentro da coluna.

Através das avaliações cromatográficas foi possível determinar que a fase SiAl(PMTFS) atua na modalidade de fase reversa, determinada pela ordem de eluição dos compostos analisados. Diferentemente das fases comumente utilizadas na modalidade de fase reversa, a fase SiAl(PMTFS) necessita de uma alta quantidade de água na fase móvel (70 %) para que haja separação total de misturas testes padrão. Esses resultados indicam uma boa perspectiva de separação de compostos hidrofóbicos e hidrofílicos pela fase SiAl(PMTFS) sem que haja geração de altos volumes de resíduo de solvente orgânico. Além disso, a fase SiAl(PMTFS), mesmo sem qualquer processo de fixação do polímero se mostrou eficiente na separação de compostos polares e apolares ao longo do estudo. A avaliação da estabilidade química da fase indicou boa estabilidade química em condições extremas de fase móvel que é proveniente da utilização do suporte de sílica aluminizada, possibilitando maiores possibilidades em relação as condições de análises.

A fase SiAl(PMTFS) foi então aplicada na separação de agrotóxicos com características polares, resultando em uma boa separação de compostos confirmando assim a seletividade do material produzido neste trabalho para separação de compostos polares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, A.; MYERS, P.; ZHANG, H. Synthesis of Nanospheres-on-Microsphere Silica with Tunable Shell Morphology and Mesoporosity for Improved HPLC. **Langmuir**, v. 30, p. 12190- 12199, 2014. <https://doi.org/10.1021/la503015x>
- ALOTHMAN, Z. A. A review: fundamental aspects of silicate mesoporous materials. **Materials**, v. 5, p. 2874-2902, 2012. <https://doi.org/10.3390/ma5122874>
- AKPOLAT, L.B.; ÇAKIR, B.A.; TOPEL, Ö.; HODA, N. Synthesis of TiO₂ nanoparticles by self-assembling reverse micelle cores of PS-b-PAA for functional textile applications. **Materials Research Bulletin**, v. 64, p. 117-122, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2014.11.028>
- BERENDSEN, G. E.; PIKAART, K. A.; GALAN, L. (Heptadecafluorodecyl)dimethylsilyl Bonded Phase for Reversed-Phase Liquid Chromatography, **Analytical Chemistry**, v.52 p. 1990-1993, 1980 <https://doi.org/10.1021/ac50062a056>
- BERTHOD, A. Silica: backbone material of liquid chromatographic column packings. **Journal of Chromatography A**, v. 549, p. 1-28, 1991. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)91415-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)91415-8)
- BUCHMEISER, M. R. New synthetic ways for the preparation of high-performance liquid chromatography supports, **Journal Chromatography A**, v. 918, p. 233-266, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00129-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00129-1)
- BUSZEWSKI, B.; JEZIEWSKA, M.; WELNIAK, M.; BEREK, D. Survey and Trends in the Preparation of Chemically Bonded Silica Phases for Liquid Chromatographic Analysis. **Journal of Separation Science**, v. 21, n. 5, p. 267-281, 1998. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4168\(19980501\)21:5<267::AID-JHRC267>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4168(19980501)21:5<267::AID-JHRC267>3.0.CO;2-7)
- BUSZEWSKI, B.; NOGA, S. Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) – a powerful separation technique. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, p. 231-247, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5308-5>
- CARVALHO, G. O.; COLLINS, C. H.; FARIA, A.M. Self-Immobilization of poly(methyltetradecylsiloxane) onto metalized silica particles as stationary phases for HPLC. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 27, n. 7, p. 1297-1304, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20160028>
- CARVALHO, G. O.; SILVA, C. G. A.; FARIA, A. M. A new stationary phase for analysis of hydrophobic compounds by RP-LC. **Chromatographia**, v. 79, p. 19-27, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10337-015-2993-9>
- CHIARADIA, M. C. **Fases estacionárias reversas a base de sílica aluminizada, com poli(metiloctilsiloxano) imobilizado termicamente**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, 2005.
- COLLINS, C. H. Michael Tswett e o "nascimento" da cromatografia. **Scientia Chromatographica**, 1, 2009. 7-20.

CRUZ, E. et al. Chromatographic classification of commercially available reverse-phase HPLC columns. **Chromatographia**, v. 44, n. 3/4, p. 151-161, 1997. <https://doi.org/10.1007/BF02466449>

DUN, H.; ZHANG, W.; WEI, Y.; XIUQING, S.; LI, Y.; CHEN, L. Layer-by-layer self-assembly of multilayer zirconia nanoparticles on silica spheres for HPLC packings. **Analytical Chemistry**, v. 76, p. 5016-5023, 2004. <https://doi.org/10.1021/ac030389j>

ENGELHARDT, H.; BLAY, Ch.; SAAR, J. Reversed Phase Chromatography – the Mystery of Surface Silanols. **Chromatographia**, v. 62, n. 13S, p. S19-S29, 2005. <https://doi.org/10.1365/s10337-005-0573-0>

ENGELHARDT, H.; JUNGHEIM, M. Comparison and characterization of reversed phases, **Chromatographia**, v. 29. N. 1/2, p. 59-68, 1990. <https://doi.org/10.1007/BF02261141>

EUERBY, M. R.; PETERSSON, P. Chromatographic classification and comparison of commercially available reversed-phase liquid chromatographic columns using principal component analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 994, p. 13-36, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00393-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00393-5)

FARIA, A.M. **Desenvolvimento de Fases Estacionárias para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa a partir da Adsorção e Imobilização do poli(metiltetradecilsiloxano) sobre Sílica Metalizada**. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, Campinas, 2006.

FERREIRA, C.C. **Preparação de Fases Estacionárias Fluoradas para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, 2014.

FERREIRA, C.C. Síntese, Caracterização e Aplicação da Fase Estacionária Pentafluorofenil com Grupo Amida Embutido. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, Campinas, 2018.

FONSECA, D. A.; GUTIÉRREZ, H. R.; COLLINS, K. E.; COLLINS, C. H. Rapid method for evaluating reversed-phase high-performance liquid chromatography column stability. **Journal of Chromatography A**, v. 1030, p. 149-155, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.12.033>

GAMA, V. S. **Otimização das Condições de Imobilização de Poli(glicidoxipropilmetilsiloxano) sobre Sílica no Preparo de Fase Estacionária Polar para CLAE**. Monografia de conclusão de curso. Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2017

GE, J.; LI, Y.; CHEN, L. Characterization of TiO₂/SiO₂ based stationary phase for RP-HPLC. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technology**, v. 29, p. 2329-2339, 2006. <https://doi.org/10.1080/10826070600864700>

GE, J.; ZHAO, L.; CHEN, L.; SHI, Y. Titanium-Coated Silica Spheres Prepared by Self-Assembly Technique for Use as HPLC Packing. **Journal of Chromatographic Science**, v. 48, p. 29-34, 2010. <https://doi.org/10.1093/chromsci/48.1.29>

GREGG, S.J.; SING, K.S.W. **Adsorption, Surface Area and Porosity**, 2^a ed., London: Academic Press, 1982. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19820861019>

GOMES, K. A.; SANTOS, A. L. R.; FARIA, A. M. Avaliação de aditivos de fase móvel e temperatura na vida útil de para cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 43, p. 300-306, 2020. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170482>

HORDERN, B.K. Chemistry of alumina, reactions in aqueous solution and its application in water treatment. **Advanced in Colloids and Interface Sciences**, v. 110, p. 19-48, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2004.02.002>

JARAMILLO, N.; PAUCAR, C.; GARCÍA, C. Influence of the reaction time and the Triton x- 100/Cyclohexane/Methanol/H₂O ratio on the morphology and size of silica nanoparticles synthesized via sol-gel assisted by reverse micelle microemulsion. **Journal of Materials Science**, v. 49, p. 3400-3406, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10853-014-8049-y>

JARDIM, I.C.S.F.; COLLINS, K.E.; COLLINS, C.H. Immobilized polysiloxanes as stationary phases for high-performance liquid chromatography and solid phase extraction. **Microchemical Journal**, v. 77, p. 191-198, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.02.013>

JARDIM, I.C.S.F.; MALDANER, L.; LOURENÇO, J.; FIORAVANTI, L.M.A.; COLLINS, C.H. Some new selective stationary phases for RP-HPLC. **Journal of Separation Science**, v. 33, p. 2917-2929, 2010. <https://doi.org/10.1002/jssc.201000313>

JARONIEC, C. P.; JARONIEC, M.; KRUK, M. Comparative studies of structural and surface properties of porous inorganic oxides used in liquid chromatography, **Journal Chromatography A**, v. 797, p. 93-102, 1988. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00998-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00998-9)

KALLURY, K. M. R.; WAITE, S.; CARR, P. W.; Column Selectivity in Reversed-phase Liquid Chromatography VIII. Phenylalkyl and Fluoro-substituted columns, **Journal of Chromatography A**, v. 1062, p. 65-78, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2008.07.001>

KIMATA, K. et al. Chromatographic characterization of silica-C18 packing materials - correlation between a preparation method and retention behavior of stationary phase. **Journal of Chromatographic Science**, v. 27, n. 12, p. 721-728. 1989. <https://doi.org/10.1093/chromsci/27.12.721>

KURGANOV, A.; DAVANKOV, V.; ISAGEVA, T.; UNGER, K.; EISENBEISS, F. Characterization of Covalently Bonded and Adsorbed Polymer Coatings on Silica, Alumina and Zirconia by Means of Physico-Chemical and Chromatographic Methods. **Journal of Chromatography A**, v. 660, p.97, 1994. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)85103-4](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)85103-4)

MALDANER, L.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. Fases Estacionárias Modernas para Cromatografia Líquida de Alta Eficiente em Fase Reversa. **Quim. Nova**, Vol. 33, No. 7, p. 1559-1568, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000700024>

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. A new thermally imobilized fluorinated stationary phase for RP-HPLC **Journal of Separation Science**, v. 33, p.174–181, 2010. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900574>

MALDANER, L. **Fases estacionárias de poli(metil-3,3,3-trifluoropropilsiloxano) imobilizado sobre suportes de sílica para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. Preparo e caracterização.** Tese de Doutorado, Instituto de química, Unicamp, Campinas, 2010.

MAO, Y.; FUNG, B. M. Use of alumina with anchored polymer coating as packing material for reversed-phase high-performance liquid chromatography, **Journal of Chromatography A**. v. 790, p. 9-15, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00718-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00718-8)

MARCHAND, D. H.; CROES, K.; DOLAN, J. W.; SNYDER, L. R.; HENRY, R. A.; KALLURY, K.M.R.; WAITE, S.; CARR, P. W. Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography: VIII. Phenylalkyl and fluoro-substituted columns. **Journal of Chromatography A**. v. 1062, p. 65-78, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.11.014>

MEYER, V.R., **Practical High-Performance Liquid Chromatography**. 5th ed. Chichester: Wiley, p. 426, 2010. <https://doi.org/10.1365/s10337-010-1749-9>

MIRJALILI, F.; HASMALIZA, M.; ABDULLAH, L.C. Size-controlled synthesis of nano α -alumina particles through the sol-gel method. **Ceramics International**, v. 36, p. 1253-1257, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2010.01.009>

NAHUM, A.; HORBATH, C. Surface silanols in silica-bonded hydrocarbonaceous stationary phases: I. Dual retention mechanism in reversed-phase chromatography, **Journal Chromatography A**. v.203, p. 53-63, 1981. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)80281-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)80281-2)

NAWROCKI, J.; DUNLAP, C.; MCCORMICK, A.; CARR, P. W. Chromatography using ultra-stable metal oxide-based stationary phases for HPLC, **Journal Chromatography A**. v. 1028, p. 1-30, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.11.052>

NAWROCKI, J.; DUNLAP, J.; LI, J.; ZHAO, J.; MCNEFF, C. V.; MCCORMICK, A.; CARR, P.W. Part II. Chromatography using ultra-stable metal oxide-based stationary phases for HPLC. **Journal of Chromatography A**, v. 1028, p. 31-62. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.11.050>

NAZARIO, C. E. D.; LANÇAS, F. M. Suportes cromatográficos e fases estacionárias para cromatografia líquida: preparo, evolução e tendências. **Scientia Chromatographica**, 5, n. 2, 2013. 111-135.

PARIDA, K. M.; PRADHAN, A. C.; DAS, J.; SAHU, N. Synthesis and characterization of nanosized porous gamma-alumina by control precipitation method. **Materials Chemistry and Physics**, v. 113, p. 244-248, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2008.07.076>

PESEK, J.J.; MATYSKA, M.T. Modified aluminas as chromatographic supports for highperformance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 952, p. 1-11, 2002. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)00176-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)00176-x)

PUBCHEM, disponível em <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, acesso em 20 de dezembro de 2021.

RANA, S.; PHILIP, J.; RAJ, B. Micelle based synthesis of cobalt ferrite nanoparticles and its characterization using Fourier Transform Infrared Transmission Spectrometry and Thermogravimetry. **Materials Chemistry and Physics**, v. 124, p. 264-269, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2010.06.029>

SANTOS, A.L.R. **Poli(óxido de etileno-co-dimetilsiloxano) termicamente imobilizado sobre sílica aluminizada como fase estacionária seletiva e estável para CLAE**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, MG, 2019.

SANTOS, A. L. R.; ASSUNÇÃO, R. M. N.; FARIA, A. M. Quantification of Hydroxyl Groups from Alumina in Aluminosilicate Materials by Adsorption Isotherms. **Braz. J. Anal. Chem.**, v. 5, p. 48-59, 2019. <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.2018.5.20.48-59>

SILVA, C.R.; JARDIM, I.C.S.F.; COLLINS, C.H.; AIROLDI, C. Novas fases estacionárias à base de sílica para cromatografia líquida de alta eficiência. **Quím. Nova**, v. 27, n. 2, p. 270-276, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000200017>

SILVEIRA, J.L.R.; DIB, S.R.; FARIA, A.M. New Support for High-Performance Liquid Chromatography Based on Silica Coated with Alumina Particles, **Analytical Sciences**, v. 30, p. 285-291, 2014. <https://doi.org/10.2116/analsci.30.285>

SILVEIRA, J.L.R.; DIB, S.R.; FARIA, A.M. New support for reversed-phase high-performance liquid chromatography based on aluminized silica. **Analytical Sciences**, v. 35, p. 285-291, 2014. <https://doi.org/10.2116/analsci.30.285>

TEIXEIRA, V.G.; COUTINHO, F.M.B.; GOMES, A.S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, v. 24, p. 808-818, 2001. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422001000600019>

TONHI, E.; BACHMANN, S.; ALBERT, K.; JARDIM, I.C.S.F.; COLLINS, K. E.; COLLINS, C.H. High-performance liquid chromatographic stationary phases based on poly(methyloctylsiloxane) immobilized on silica: I. Physical and chemical characterizations. **Journal of Chromatography A**, v. 948, p. 97-107, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01612-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01612-0)

TRUDINGER, U.; MULLER, G.; UNGER, K.K. Porous zirconia and titania as packing materials for highperformance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.535, p 111-125, 1990. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)88938-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)88938-X)

VAN DER VOORT, P.; VANSANT, E.F. Silylation of the Silica Surface A Review. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 19, p. 2723-2752, 1996. <https://doi.org/10.1080/10826079608015107>

VIGNA, C. R. M. **Tratamento térmico na imobilização de fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, p. 104. 2004.

ZHANG, W. Fluorocarbon Stationary Phases for Liquid Chromatography Applications, **Journal of Fluorine Chemistry**, v.129, p. 910-919, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2008.07.001>

ZHURAVLEV, L.T. The surface chemistry of amorphous silica. Zhuravlev model. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 173, p. 1-39, 2000. [https://doi.org/10.1016/s0927-7757\(00\)00556-2](https://doi.org/10.1016/s0927-7757(00)00556-2)