

# **Adsorvente baseado em híbridos de sílica gel/poliamida-6 para aplicação em cromatografia de camada delgada (TLC)**

Geysy Lopes Ribeiro

Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros, submetida ao Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros, sob orientação do Professor Luis Cláudio Mendes.

Rio de Janeiro

2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**1 Dissertação de Mestrado:**

Adsorvente baseado em híbridos de sílica gel/poliamida-6 para aplicação em cromatografia de camada delgada (TLC).

**Autor:** Geysy Lopes Ribeiro

**Orientador:** Luis Cláudio Mendes

**Co-orientador:** Edemilson Pinto da Silva

**Data da defesa:** 20 de julho de 2009

**Aprovada por:**

---

Luis Cláudio Mendes, D.Sc. - Orientador  
Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano - IMA / UFRJ

---

Edemilson Pinto da Silva, D.Sc. – Co-orientador  
Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais - NPPN / UFRJ

---

Élen Beatriz A. V. Pacheco, D.Sc.  
Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano - IMA / UFRJ

---

Magali Silveira Pinho, D.Sc.  
Instituto de Pesquisas da Marinha - IPqM

---

Tathiane C.R.F. Lessa, D.Sc.  
Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano - IMA / UFRJ

Rio de Janeiro  
2009

**FICHA CATALOGRÁFICA**

Ribeiro, Geysy Lopes.

Adsorvente baseado em híbridos de sílica-gel/poliamida-6 para aplicação em cromatografia de camada delgada (TLC) / Geysy Lopes Ribeiro. – Rio de Janeiro, 2009.

xiii, 73 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano – IMA, 2009.

Orientador: Luis Cláudio Mendes

Co-orientador: Edemilson Pinto da Silva

1. Cromatografia em camada delgada (TLC). 2. Sílica-gel. 3. Poliamida-6. 4. Adsorvente orgânico-inorgânico. 5. Polímero. I. Mendes, Luis Claudio (Orient.). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano. III. Título.

Esta Tese de Mestrado foi desenvolvida nos Laboratórios do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio Janeiro, com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Dedico este passo importante na minha carreira à minha mãe e ao meu irmão, pelo apoio e compreensão em todos os momentos.

*“A mente que se abre a uma nova idéia  
jamais voltará ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein.

*“A dúvida é o princípio da sabedoria.”*

Aristóteles

*“O que sabemos é uma gota,  
o que ignoramos é um oceano”*

Isaac Newton

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar uma vida cheia de saúde e felicidades;

Agradeço ao meu orientador Luis Cláudio Mendes pelo apoio, paciência, estímulo e inteira dedicação neste trabalho;

Agradeço ao meu co-orientador Edemilson Pinto da Silva pelo apoio, paciência, estímulo e inteira dedicação neste trabalho;

Agradeço à minha mãe por toda a educação e amor depositados em mim;

Agradeço ao meu irmão que, da sua maneira, sempre me incentivou;

Agradeço a toda equipe da Central Bibliográfica de Polímeros do IMA-UFRJ;

Agradeço à Beatriz de Souza Chagas pela realização das análises de microscopia ótica;

Agradeço a Márcia Regina Benzi pela realização das análises de FTIR;

Agradeço ao Instituto de Macromoléculas Professora Eloísa Mano e à Universidade Federal do Rio de Janeiro pela oportunidade de realização do Mestrado;

Agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa;

Agradeço à equipe do laboratório J-113, Ana Luiza, Ana Paula, Evelyn, Flávio, João, Luis Alberto, Patrícia, Paula, Rodriângela e Sibebe por todos os momentos e por terem tornado os dias de trabalho mais amenos e divertidos;

E a todos os amigos de Pós-Graduação, Andrea, Lilian, Micheli, Renato, Silas e Viviane, pela convivência e pelos momentos de descontração.



Resumo da Tese apresentada no Instituto de Macromoléculas Professora Eloísa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (MSc), em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

**Adsorvente baseado em híbridos de sílica gel/poliamida-6 para aplicação em cromatografia de camada delgada (TLC)**

Geysy Lopes Ribeiro

Orientador: Luis Cláudio Mendes

Co-orientador: Edemilson Pinto da Silva

Híbridos de sílica gel/poliamida-6 (PA-6), com 100/0, 80/20, 50/50, 20/80 e 0/100% em massa de poliamida, foram preparados visando obter um novo adsorvente para uso como fase estacionária em cromatografia de camada delgada (TLC). A placa cromatográfica, com espessura homogênea, foi obtida pelo vazamento da dispersão aquosa do material sobre um suporte de vidro, seguido da evaporação da água. A eficácia do adsorvente foi avaliada através da eluição dos fitoprodutos:  $\beta$ -lapachona, quercetina e rutina, utilizando como fase móvel éter, n-hexano e metanol, isoladamente ou em mistura. O fator de retenção foi considerado para avaliar a eficiência do híbrido. Éter foi o solvente com melhor desempenho como fase móvel, seguido de metanol e n-hexano. Fotografias digitais e fotomicrografias óticas revelaram o perfil cromatográfico e a morfologia do adsorvente, respectivamente. Verificou-se que a forma, tamanho e distribuição e a dispersão das partículas de PA-6 influenciaram a eluição dos fitoprodutos. Foi também observado que os grupamentos amida interagiram intensamente com os fitoprodutos, através de ligação de hidrogênio, tornando difícil sua eluição. Neste estudo, nem a sílica gel nem tampouco a PA-6 pode ser considerada como adsorvente ideal. Os melhores desempenhos foram alcançados pelos híbridos com até 50% em massa de PA-6.

Rio de Janeiro

2009

Abstract of Dissertation presented to Instituto de Macromoléculas Professora Eloísa Mano of Universidade Federal do Rio de Janeiro, as partial fulfillment of the requirement for the degree of Master in Science (MSc), Science and Technology of Polymers.

**Adsorbent based on hybrids of silica gel/polyamide-6 for application in thin layer chromatography (TLC)**

Geysy Lopes Ribeiro

Orientador: Luis Cláudio Mendes

Co-orientador: Edemilson Pinto da Silva

Hybrids of silica gel/polyamide-6 (PA-6), with 100/0, 80/20, 50/50, 20/80 e 0/100% of weight of polyamide, were prepared aiming to obtain a new adsorbent for use as stationary phase in thin layer chromatography (TLC). The chromatographic plate, with homogeneous thickness, was obtained by pouring of the material aqueous dispersion onto a glass support, followed by the water evaporation. The adsorbent effectiveness was evaluated through the elution of the phytoproducts:  $\beta$ -lapachone, quercetine and rutine, using as the mobile phase ether, hexane and methanol, solely or in mixing. The retardation factor was considered to assess the hybrid efficiency. Ether was the solvent with the best performance as the mobile phase, followed by methanol and hexane. Digital photographs and optical photomicrographs revealed the chromatographic profile and morphology of the adsorbent, respectively. It was noticed that the shape, size and distribution, and dispersion of PA-6 particles have influenced the elution of the phytoproducts. It was also observed that the amide groups interacted strongly with phytoproducts, through hydrogen bond, making difficult the elution. In this study, neither silica nor PA-6 may be considered as ideal adsorbent. The best performances were achieved by the hybrids with until 50% of weight of PA-6.

Parte desta Dissertação de Mestrado foi apresentada no seguinte Congresso:

1. XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (ERSBQ), Belo Horizonte, MG, Brasil, 06 a 09 de novembro de 2008, Híbrido de sílica gel/poliamida-6 como fase estacionária para cromatografia em camada delgada (TLC)
2. Polychar 17 – World Forum on Advanced Materials, Rouen, 20-24th, April 2009, France, Thin layer chromatography (TLC) using sílica-gel/polyamide-6 as a stationary phase.

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
3.1	MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	4
3.2	CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA	4
3.3	ADSORVENTES INORGÂNICOS PARA FINS CROMATOGRÁFICOS	6
<b>3.3.1</b>	<b>Sílica</b>	<b>6</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Alumina</b>	<b>7</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Terra diatomácea</b>	<b>10</b>
3.4	ADSORVENTES ORGÂNICOS PARA FINS CROMATOGRÁFICOS	11
3.5	ADSORVENTES ORGÂNICO-INORGÂNICO PARA FINS CROMATOGRÁFICOS	14
<b>4.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>23</b>
4.1	MATERIAIS	23
4.2	EQUIPAMENTOS	24
4.3	MÉTODOS	24
<b>4.3.1</b>	<b>Espectroscopia no infravermelho da sílica-gel, PA-6 e do gesso</b>	<b>24</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Fluorescência de raios-X (XRF)</b>	<b>24</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Preparação das placas cromatográficas</b>	<b>25</b>
<b>4.3.3.1</b>	<b>Analitos</b>	<b>26</b>
<b>4.3.3.2</b>	<b>Solventes</b>	<b>28</b>

4.4	CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA	29
4.5	DETERMINAÇÃO DO FATOR DE RETENÇÃO	30
4.6	AVALIAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO E DA MORFOLOGIA DO ADSORVENTE APÓS A ANÁLISE DE TLC	30
4.6.1	<b>Avaliação do perfil cromatográfico</b>	<b>31</b>
4.6.2	<b>Microscopia ótica (OM)</b>	<b>32</b>
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>33</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA SÍLICA-GEL, DA PA-6 E DO GESSO	33
5.2	AVALIAÇÃO DO FATOR DE RETENÇÃO	33
5.2.1	<b>Avaliação da eluição do solvente <i>versus</i> composição do adsorvente</b>	<b>33</b>
5.2.2	<b>Avaliação do fator de retenção <i>versus</i> composição do adsorvente, na presença de diferentes solventes e analitos</b>	<b>34</b>
5.2.2.1	<b>Avaliação do fator de retenção dos analitos <i>versus</i> composição do adsorvente, em éter</b>	<b>34</b>
5.2.2.2	<b>Avaliação do fator de retenção dos analitos <i>versus</i> composição do adsorvente, em n-hexano</b>	<b>35</b>
5.2.2.3	<b>Avaliação do fator de retenção dos analitos <i>versus</i> composição do adsorvente, em metanol</b>	<b>35</b>
5.3	AVALIAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS ADSORVENTES PARA CADA PAR SOLVENTE-ANALITO	42
5.3.1	<b>Perfil cromatográfico do par éter-<math>\beta</math>-lapachona</b>	<b>42</b>
5.3.2	<b>Perfil cromatográfico do par éter- quercetina</b>	<b>44</b>
5.3.3	<b>Perfil cromatográfico do par éter- rutina</b>	<b>46</b>
5.3.4	<b>Perfil cromatográfico do par n-hexano-analitos</b>	<b>48</b>
5.3.5	<b>Perfil cromatográfico do par metanol- <math>\beta</math>-lapachona</b>	<b>49</b>

<b>5.3.6</b>	<b>Perfil cromatográfico do par metanol-quercetina</b>	<b>50</b>
<b>5.3.7</b>	<b>Perfil cromatográfico do par metanol-rutina</b>	<b>51</b>
<b>5.4</b>	<b>AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO CROMATOGRÁFICO DOS ADSORVENTES EM SISTEMAS BINÁRIOS DE ANALITOS E DE SOLVENTES</b>	<b>53</b>
<b>5.4.1</b>	<b>Efeito do substrato</b>	<b>54</b>
<b>5.4.2</b>	<b>Comportamento de solvente e analito no adsorvente sílica-gel/PA-6 (80/20)</b>	<b>58</b>
<b>5.5</b>	<b>MICROSCOPIA ÓTICA</b>	<b>60</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>64</b>
<b>7.</b>	<b>SUGESTÕES</b>	<b>66</b>
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>67</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A análise química de misturas complexas é um dos ramos mais difundidos e relevantes da Química Analítica. O isolamento e a caracterização de produtos naturais constituem ainda hoje um dos pontos críticos para o desenvolvimento da química de produtos naturais. A utilização de materiais poliméricos nesse campo abre uma perspectiva na resolução de problemas. Colunas com recheios à base de polímeros tornam-se cada vez mais usadas em cromatografia, permitindo solucionar problemas que não foram ainda resolvidos por outras técnicas que utilizam a sílica como material adsorvente. Embora a cromatografia de adsorção em coluna de sílica gel tenha uso predominante nos processos de fracionamento de misturas de substâncias orgânicas, sabe-se que 25% das colunas comercializadas hoje contêm como recheio materiais poliméricos. Essa percentagem está crescendo com o desenvolvimento de novos polímeros e com a expansão das aplicações de colunas poliméricas já existentes [1,2].

Técnicas de separação cromatográfica são amplamente empregadas na análise de componentes químicos em amostras complexas. Materiais como celulose, terra diatomácea, alumina, e principalmente sílica-gel, em suas várias modificações, são capazes de adsorver uma ou mais substâncias. Alguns destes materiais, particularmente a sílica-gel, são instáveis em meio alcalino e sua aplicabilidade é limitada a algumas substâncias. Além disso, na cromatografia líquida, sob agitação freqüente e/ou em altas pressões, a sílica-gel tende a ser instável. Materiais com textura porosa, em particular, fraturam e esmigalham facilmente perdendo suas características adsorventes. É assim desejável, ter um adsorvente e/ou suportes cromatográficos que possuam alta estabilidade física e química, como também boa capacidade de adsorção e de separação. Atualmente, fases estacionárias com funcionalidades desejadas são à base de modificações químicas na superfície da sílica [3,4].

O uso de sorventes poliméricos é conhecido na área de separação analítica e preparativa. Sua estrutura porosa pode ser controlada pela escolha do monômero, temperatura de polimerização, quantidade e tipo de solvente porogênico e teor de

ligação cruzada. Assim, uma série de propriedades pode ser agregada à estrutura do material, não só pelo controle de polimerização, como também pela combinação com outros polímeros ou outros materiais inorgânicos [1,5].

Devido à importância das técnicas cromatográficas utilizadas para separação de compostos orgânicos, neste trabalho foram preparados híbridos de sílica-gel/poliamida-6 (PA-6), com 100/0, 80/20, 50/50, 20/80 e 0/100% em massa de poliamida, visando obter um novo adsorvente para uso como fase estacionária em cromatografia de camada delgada (TLC).



## 2. OBJETIVO

A presente Dissertação de Mestrado teve como objetivo preparar um novo adsorvente, um híbrido de sílica-gel/poliamida-6, e investigar seu potencial como fase estacionária em cromatografia de camada delgada.

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- ✓ Preparar placas cromatográficas contendo híbridos de sílica gel/poliamida-6 contendo 100/0, 80/20, 50/50, 20/80 e 0/100% em massa de sílica-gel e poliamida, respectivamente;
- ✓ Avaliar o desempenho dos híbridos como adsorventes em cromatografia de camada delgada na separação de fitoprodutos:  $\beta$ -lapachona, quercetina e rutina , utilizando como fase móvel éter, n-hexano e metanol.
- ✓ Avaliar os mecanismos envolvidos no processo de eluição das analitos considerando os efeitos da composição da fase estacionária, polaridade do solvente e a morfologia dos constituintes do adsorvente.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção são descritos aspectos gerais relativos à cromatografia de camada delgada e suas recentes aplicações. Além disso, serão apresentados os materiais mais usados como adsorventes, tanto de natureza orgânica quanto inorgânica.

#### 3.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

*Cromatografia* é uma palavra de uso geral que especifica uma técnica de caracterização por separação, através de uma fase estacionária e outra móvel, enquanto o termo *método cromatográfico* define qual critério - natureza química, massa molar, estado físico -, foi utilizado na cromatografia para a realização da separação. Estes nomes são atribuídos ao botânico russo M.S. Tswett, que, em 1906, usou colunas de adsorção em suas investigações sobre pigmentos de plantas. Ele criou o termo cromatografia, não se sabe se por ter separado pigmentos de colorações diferentes ou porque a palavra cor em russo é *tswett*. Trata-se de um processo físico-químico de separação baseado na distribuição dos componentes entre uma fase estacionária e uma fase móvel. A fase estacionária pode ser um sólido ou um líquido, dispostos sobre um suporte sólido com grande área superficial. A fase móvel pode ser gasosa, líquida, ou ainda, um fluido supercrítico, que passa sobre a fase estacionária, arrastando os diversos componentes da mistura. Esta separação é resultante da diferença de velocidade dos componentes arrastados pela fase móvel devido às diferentes interações com a fase estacionária [1,6].

Vários métodos cromatográficos são conhecidos atualmente e podem ser agrupados de diversas maneiras. Nas Tabelas 1 e 2 estão descritas classificações quanto à interação entre as fases e os fenômenos físicoquímicos envolvidos na separação.

#### 3.2 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Segundo Collins, Khan e colaboradores [2,7] a cromatografia em camada delgada, TLC, é uma ferramenta para análise qualitativa rápida, sendo usada para o isolamento

de pequena fração de mistura complexa ou na purificação de uma determinada substância. Na TLC, a fase estacionária é uma camada fina formada por um sólido granuloso (sílica, alumina, carvão ativado etc.), depositado sobre uma placa de vidro, alumínio ou outro suporte, de modo que o processo de separação ocorra numa superfície plana, essencialmente bidimensional. Este tipo de cromatografia oferece vantagens sobre outras técnicas. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) fornece maior resolução e melhor controle de variáveis experimentais enquanto a TLC é mais rápida e menos custosa, possibilitando a análise de várias amostras paralelamente. Por essa razão, torna-se a melhor escolha para a análise de muitas amostras [8].

O fenômeno responsável pelo processo de separação é a adsorção, que consiste num aumento da concentração de uma substância na superfície de um sólido. Compostos apolares interagem através das forças de van der Waals, porém, as interações mais importantes estão ligadas a moléculas polares e podem ser de natureza iônica, coordenação, ligação de hidrogênio e dipolo-dipolo. Desta forma, quanto maior a polaridade da molécula, mais fortemente estará ligada ao adsorvente [2].

Tabela 1. Classificação dos métodos cromatográficos de acordo com a natureza das fases [2]

<b>Cromatografia</b>	<b>Fase móvel</b>	<b>Fase estacionária</b>	<b>Interação entre as fases</b>
Gasosa (GC)	Gasosa	Líquida	Gás-líquido
	Gasosa	Sólida	Gás-sólido
Líquida (LC)	Líquida	Líquida	Líquido-líquido
	Líquida	Sólida	Líquido-sólido
Supercrítica	Fluido supercrítico	Líquida	---
	Fluido supercrítico	Sólida	---

Tabela 2. Classificação dos métodos cromatográficos de acordo com o fenômeno físico-químico [2]

Cromatografia		Fase móvel	Fase estacionária	Aspecto relevante	Fenômeno físico-químico
Gasosa (GC)		Gasosa	Líquida ou sólida	Polaridade ou solubilidade	Adsorção ou partição
Líquida	HPLC*	Líquida	Líquida ou sólida	Polaridade, solubilidade ou Troca iônica	Adsorção, partição, troca iônica
	SEC**			Volume molecular	Filtração
	TLC			Polaridade, solubilidade ou Troca iônica	Adsorção, partição, troca iônica

\*HPLC- High performance liquid chromatography; \*\*SEC- Size exclusion chromatography.

### 3.3 ADSORVENTES INORGÂNICOS PARA FINS CROMATOGRÁFICOS

Os principais adsorventes inorgânicos de uso cromatográfico em ordem de importância são sílica, alumina e terra diatomácea. Particularmente, em TLC, os adsorventes mais usados são sílica e alumina. Há ainda outros cuja utilização é mais restrita, como no caso dos silicatos de cálcio e de magnésio, utilizados em meio com pH entre 8-10 [2,9].

#### 3.3.1. Sílica

A sílica é atualmente o adsorvente mais utilizado como adsorvente cromatográfico. Este material, composto por dióxido de silício, é encontrado em sua forma cristalina ou amorfa. O quartzo e a terra diatomácea encontram-se na forma cristalina enquanto a sílica-gel é amorfa. A sílica-gel é um polímero inorgânico, inerte, resistente, com alta porosidade, e possui ampla aplicabilidade como trocadora catiônica, queladora de espécies, fase estacionária para cromatografia, dentre outras. Segundo Prado [10], a

sílica apresenta-se em unidades tetraédricas  $\text{SiO}_4$ , distribuídas aleatoriamente e unidas por pontes siloxânicas, Si-O-Si, em seu interior e contém grupamento silanol isolado, vicinal e geminado, dispersos na superfície, os quais são sensíveis às reações que possibilitam as modificações químicas dessa matriz. A Figura 1 mostra esquematicamente a estrutura química dos grupamentos silanóis, isoladamente. A reatividade da sílica-gel amorfa está associada à alta concentração de grupamentos silanóis Si-OH, os quais são centros reativos que podem reagir com outras moléculas modificando a superfície e o interior dos poros. A modificação da sílica-gel com grupamentos orgânicos é bastante empregada através da reação dos grupamentos silanóis com agentes sililantes [10-12]. A Figura 2 apresenta esquematicamente a estrutura da superfície da sílica mostrando os grupamentos silanóis.

### 3.3.2. Alumina

A alumina é o segundo adsorvente mais utilizado. Possui caráter alcalino, embora também possa ser modificada e apresentar características neutra ou ácida sendo, portanto, útil na separação de substâncias que apresentem variações destas características. A alumina possui resistência mecânica comparável à sílica e resistência química superior, porém não possui a disponibilidade de variedade da sílica. A vantagem em sua utilização como adsorvente é sua estabilidade frente à fase móvel fortemente alcalina ( $\text{pH} \geq 12$ ), porém apresenta desvantagem na separação de ácido carboxílico devido à adsorção irreversível do ácido na sua superfície. Coluna de alumina modificada apresenta baixo custo, fácil instalação e operação [2,6,7].

Recentemente Khan e colaboradores [7] realizaram a modificação da superfície da alumina com  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (óxido férrico) resultando na melhoria da separação de alcanos e alcenos. Alguns parâmetros cromatográficos foram observados como o número e a altura equivalente de pratos teóricos e a alteração da forma do pico (*tailing factor*), através da comparação do mecanismo de retenção de hidrocarbonetos gasosos da alumina modificada e não modificada. A escolha do  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  para incorporação na alumina foi devido à sua alta estabilidade térmica, pequeno tempo de condicionamento e durabilidade do adsorvente. O estudo da superfície, visando investigar a presença de  $\text{Fe}^{3+}$ , foi feito através da técnica de microscopia eletrônica de

varredura acoplada à análise de espectroscopia de energia dispersiva com raios-X (SEM/EDXA), conforme mostrado na Figura 3. A melhoria na resolução dos cromatogramas é resultado da interação do íon  $\text{Fe}^{3+}$  com a dupla ligação do alceno. A aplicação dessas colunas em GC foi bem sucedida, apresentando-se como alternativa de baixo custo, fácil instalação e operação.

Mao e colaboradores [14] desenvolveram um novo material, através do recobrimento do suporte da alumina pelo ancoramento de polímero em sua superfície (*anchored polymer coatings on alumina* – APCA). Inicialmente, o ácido maleico foi adsorvido à superfície da alumina, em seguida, foi realizada uma polimerização *in situ* de 1-octadeceno sobre o suporte, na presença de 1,4-divinilbenzeno. Este último foi acrescentado durante o processo de polimerização para aumentar a massa molar e a estabilidade do copolímero. O conjunto foi usado como adsorvente em cromatografia líquida de alta eficiência, com fase reversa (RP-HPLC). O mecanismo de ancoramento foi atribuído à formação de ligações de hidrogênio na superfície da alumina. A coluna foi utilizada para a separação da mistura de *p*-nitroanilina, benzoato de metila e xileno sendo os resultados comparados aos de colunas comerciais à base de sílica (EcSi-C<sub>18</sub> e VySi-C<sub>18</sub>). A Tabela 3 mostra que a eficiência da coluna de APCA é comparável à da coluna VySi-C<sub>18</sub>, porém menor que aquela encontrada para a coluna EcSi-C<sub>18</sub>. Os autores atribuíram a diferença principalmente ao menor tamanho das partículas de sílica da coluna EcSi-C<sub>18</sub> e consideraram o material como uma alternativa promissora para substituição de recobrimentos à base de sílica.

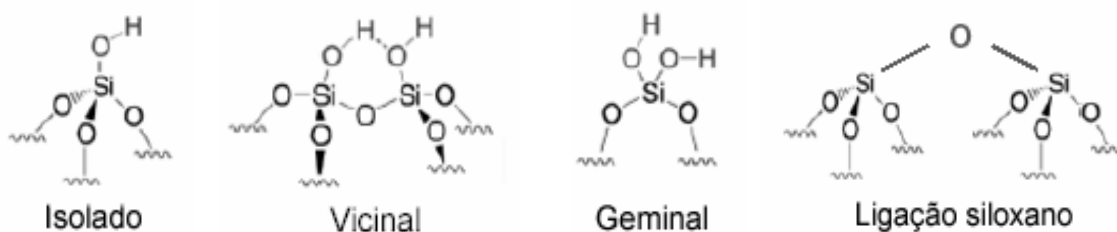


Figura 1. Representação esquemática dos grupamentos silanóis e da ligação siloxânica presentes na sílica amorfa [13]

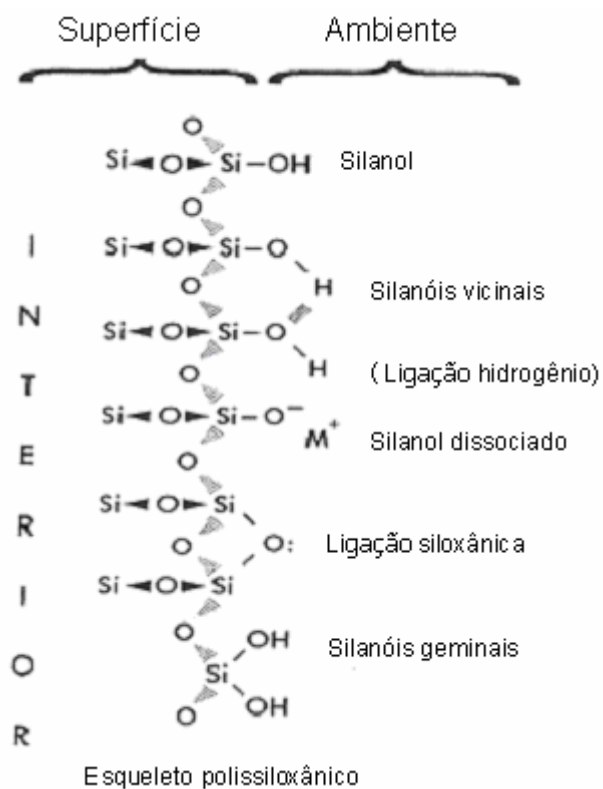


Figura 2. Representação esquemática da estrutura da sílica gel [6]

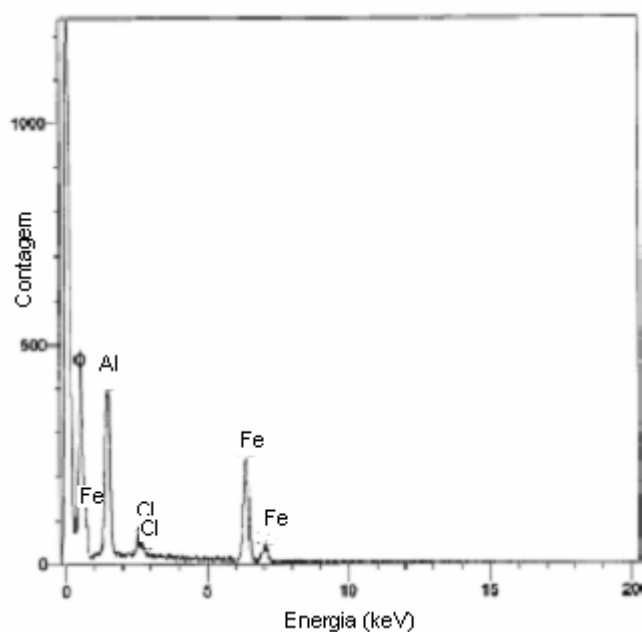


Figura 3. Espectro EDX da alumina modificada com Ferro [7]

Tabela 3. Comparação de desempenho das colunas [14]

	APCA-C <sub>18</sub>			VySi-C <sub>18</sub>			EcSi-C <sub>18</sub>		
	<i>K</i>	<i>α</i>	<i>N</i>	<i>K</i>	<i>α</i>	<i>N</i>	<i>κ</i>	<i>α</i>	<i>N</i>
p-nitroanilina	0,44		352	0,28		257	0,88		1528
Benzoato de metila	0,81	1,8	269	0,94	3,4	330	2,0	2,3	2070
Xileno	2,1	2,6	3,81	3,5	3,7	347	5,4	2,7	3576

*κ*- fator de retenção, *α*- seletividade, *N*- eficiência da coluna.

### 3.3.3. Terra diatomácea

Outro adsorvente utilizado em TLC é a terra diatomácea. É um silicato de origem fóssil, de algas unicelulares, cuja estrutura se apresenta como um favo de mel, conforme mostrado na Figura 4. Este material possui característica neutra e pode ser empregado como fase estacionária nas separações por partição e adsorção. Quando comparado à sílica e a alumina, apresenta menor capacidade de adsorção e menor poder de resolução [2,9,15].

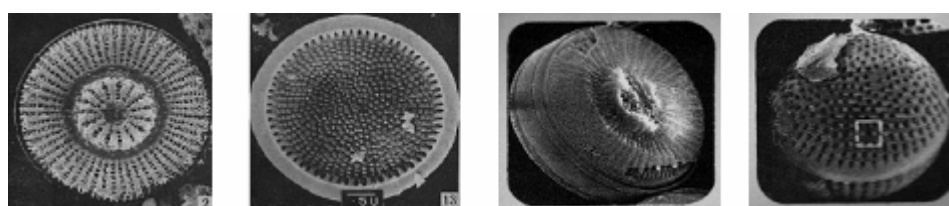


Figura 4. Formas estruturais de diatomáceas [16]

Hadjadj-aoul e colaboradores [15] submetem duas amostras de diatomáceas a tratamento com Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> (metasilicato de sódio) e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (carbonato de sódio) para utilização como fase estacionária em cromatografia em fase gasosa. A avaliação da seletividade foi realizada através da separação de misturas de hidrocarbonetos e de álcoois. Na Figura 5 encontram-se os cromatogramas nos quais se pode comparar o desempenho dos adsorventes, antes e após a modificação. Foi observado que os



picos são bem resolvidos e simétricos, com ordem de eluição idêntica, e assim não apresentaram diferença significativa entre os adsorventes. A eficiência das colunas foi considerada adequada. Os autores relataram que o desempenho desses materiais foi similar ao de colunas comerciais.

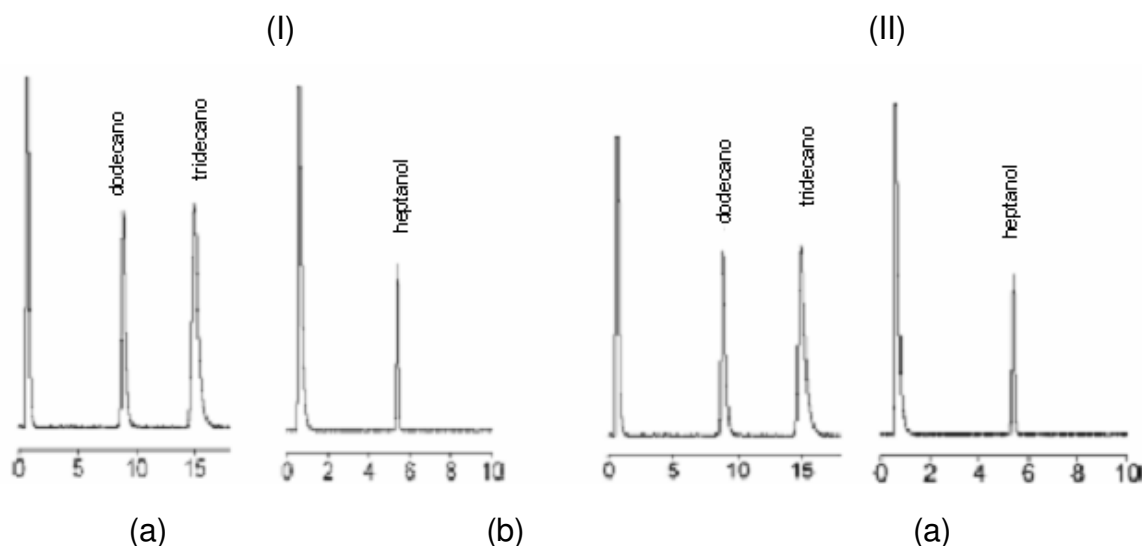


Figura 5. Cromatograma com coluna de: (I) diatomácea não-tratada. Picos: a= 8,77 min, n-dodecano; 14,80 min: n-tridecano; b = 6,15 min: heptanol; (II) diatomácea tratada. Picos a = 8,78 min: n-dodecano; 14,88 min: n-tridecano; b = 5,30 min: heptanol [15]

### 3.4. ADSORVENTES ORGÂNICOS PARA FINS CROMATOGRÁFICOS

O carvão ativado e a celulose foram durante algum tempo os principais materiais orgânicos empregados como adsorventes. Atualmente, o uso isolado destes materiais perdeu a importância, uma vez que foi observado que apresentam melhores características de adsorção na presença de compostos inorgânicos, por exemplo, a sílica.

Adsorventes orgânicos são usados, quase que exclusivamente, em separações de componentes hidrofílicos como aminoácidos, derivados de ácidos nucleicos, açúcares etc. Dentre os principais adsorventes orgânicos utilizados pode-se destacar o carvão ativado, a celulose e os de origem polimérica. De utilização mais restrita, uréia e

polietileno podem ser utilizados na separação de ácidos graxos enquanto géis de dextrana apresentam bons resultados na separação de aminoácidos e proteínas [2,9]. Carvão ativado é um adsorvente hidrofóbico que adsorve substância apolar ou ligeiramente polar em solução aquosa e metais sob a forma de quelato [17]. Lebeda e colaboradores [18] estudaram a aplicação de vários tipos de adsorventes à base de carbono - carvão ativo, peneira molecular de carbono, negro de fumo grafitizado, dentre outros -, proporcionando modificações na superfície desses materiais, para melhoria das condições de separação. As propriedades desses adsorventes dependeram da conformação de suas cadeias, que são encontradas em diferentes graus de cristalinidade e pureza. Carvão ativo já foi utilizado em cromatografia de fase gasosa (GC), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e em cromatografia em camada delgada (TLC), porém devido à sua baixa seletividade não é adequado como fase estacionária em substituição à sílica [19].

A celulose tem sido empregada como fase estacionária em cromatografia de partição ou de troca iônica. Pode ser encontrada impregnada com outros compostos, visando à separação de diferentes analitos como proteínas, aminoácidos, ácidos carboxílicos, carboidratos, cátions inorgânicos e fosfatos, dentre outros [2].

Adsorventes poliméricos são altamente estáveis e seletivos, além de serem facilmente regenerados quando comparados aos materiais porosos inorgânicos. Podem ser funcionalizados além de manipulados quanto à área superficial e porosidade. Colunas poliméricas são mais apropriadas em separações em que a estabilidade da coluna é importante e em aplicações envolvendo íons, pois não é afetada por fase móvel com pH elevado, devido à grande estabilidade de muitos polímeros na faixa de pH de 0 a 14. O copolímero de estireno-divinilbenzeno é freqüentemente utilizado como adsorvente polimérico devido à elevada estabilidade em ampla faixa de pH, sendo assim, muito empregado na extração de produtos naturais [1,20-22].

Adachi e colaboradores [23] utilizaram adsorventes sintéticos baseados em poliestireno (PS) e poli(metacrilato de metila) (PMMA) como fase estacionária, para cromatografia líquida. Relataram que a retenção do adsorvente à base de PMMA foi maior do que aquela observada para os de base PS e de sílica (Figura 6). Os autores

atribuíram este fato às diferenças de polaridade e de estrutura química entre os adsorventes. O adsorvente à base de PS, constituído por anéis benzênicos, apresenta características ligeiramente polares enquanto aquele à base de PMMA, um éster do ácido metacrílico, tem característica polar (Figura 7).

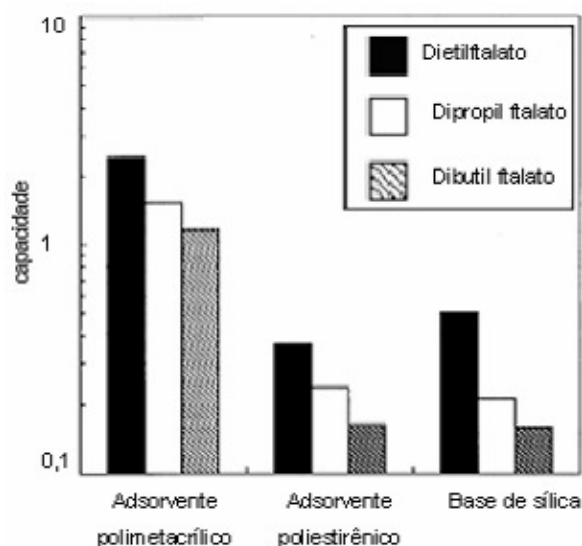


Figura 6. Fator de capacidade de ftalatos de di-álquila analisados em cada adsorvente, em mistura de n-hexano:isopropanol (90:10) [23]

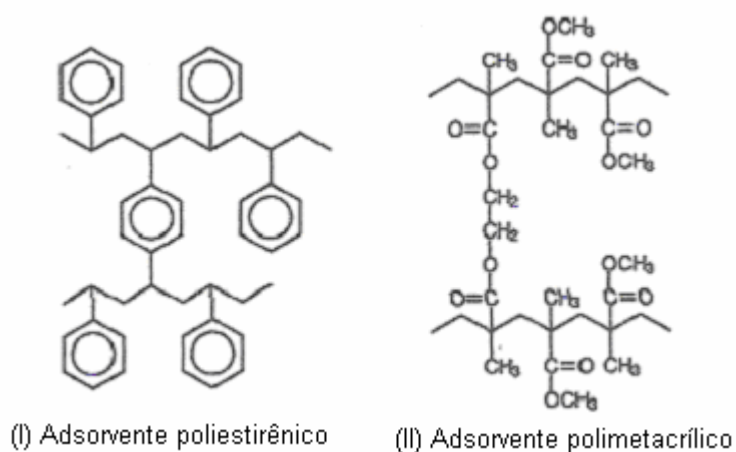


Figura 7. Estrutura química de adsorventes: (I) PS e (II) PMMA [23]

Assim, os autores concluíram que adsorventes poliméricos sintéticos podem ser comparados aos convencionais, como sílica, garantindo maior estabilidade química e

melhoria na separação de produtos naturais como ácidos graxos poli-insaturados, tocoferóis e tocotrienóis de óleos vegetais.

### 3.5 ADSORVENTES ORGÂNICO-INORGÂNICO PARA FINS CROMATOGRÁFICOS

Adsorventes orgânicos não possuem a resistência mecânica daqueles à base de sílica. Apresentam-se estáveis tanto em pH alcalino quanto ácido, porém, em determinada composição de fase móvel podem encolher ou inchar, resultando em fase estacionária com baixa eficiência.

O adsorvente cromatográfico à base de sílica tem limitações e assim torna-se necessária a sua combinação com composto orgânico. Moléculas orgânicas com propriedades específicas são empregadas na obtenção de novas fases estacionárias cromatográficas através da inserção de moléculas volumosas, polimerização de monômeros ou ainda através de reação com grupamentos funcionais, tanto na superfície quanto em seu interior. Uma dessas limitações está relacionada à não homogeneidade da superfície da sílica devido à presença de diferentes grupamentos silanóis que atuam diretamente sobre o mecanismo de retenção. Uma outra limitação diz respeito à elevada reatividade do grupamento silanol ( $\equiv\text{Si-OH}$ ), que pode interagir com vários tipos de moléculas básica e/ou ácida, presentes na fase móvel, e adsorvê-las, promovendo a dissolução da fase estacionária na fase móvel, tendo como resultado a perda da sílica e o colapso da coluna. Assim, a modificação superficial é essencial para melhorar a estabilidade e a uniformidade da superfície da fase estacionária além de minimizar interações indesejáveis com o analito [4, 13, 23-28].

A modificação de adsorvente à base de sílica pode ser conduzida por reação química ou por interação física, sorção ou imobilização, na superfície do adsorvente [13]. Na Figura 8 estão representadas esquematicamente possíveis reações de modificação na superfície do adsorvente de sílica. Resultam na formação de uma variedade de ligações covalentes entre o átomo de silício e átomos de oxigênio, carbono e nitrogênio. No caso em que um átomo de oxigênio está ligado a dois átomos de silício, a ligação é denominada de siloxânica.

O silil-éter apresenta baixa estabilidade hidrolítica não sendo possível seu uso como fase móvel à base de água. A reação com reagente de Grignard apresenta estabilidade hidrolítica superior à fase estacionária modificada com o substituinte éter, porém a concentração do grupamento fenila na superfície do adsorvente é baixa, além da presença de resíduos indesejáveis da reação. O adsorvente contendo ligação do tipo Si-N tem a sua aplicação restrita à faixa de pH entre 4 e 8. A fase estacionária com ligação siloxânica tem maior resistência hidrolítica e apresenta a maior eficiência de separação.

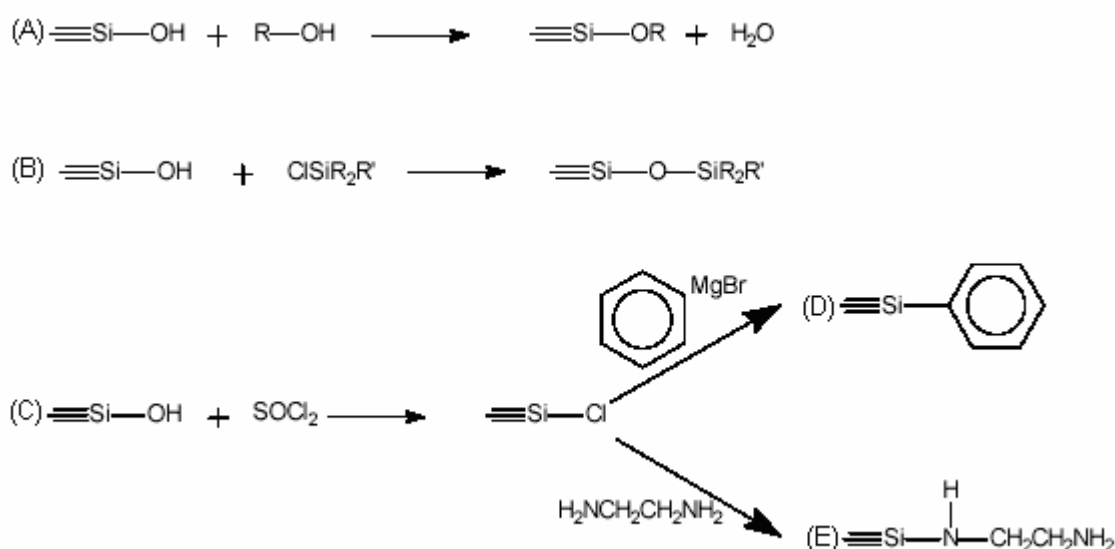


Figura 8. (A) reação de obtenção de silil-éter; (B) reação de obtenção de siloxano; (C) reação de obtenção de cloreto de silila; (D) reação de obtenção de silil-benzeno; (E) reação de obtenção de silil-amina [13]

O uso de silano mono, bi ou trifuncional (Figura 9) como modificador da superfície da sílica, isoladamente ou em mistura, é realizado pela reação de organossilanização que é mais eficiente em ausência de água. Um silano monofuncional é capaz de reagir com apenas um grupamento silanol permitindo que os remanescentes possam reagir com o analito, alterando o mecanismo de retenção de diferentes tipos de analitos além de causar o alargamento do pico cromatográfico. À medida que a funcionalidade do silano aumenta, menor a tendência de se encontrar grupamentos silanóis livres, e assim, a fase estacionária resultante terá maior eficiência e estabilidade. Organo-silanos, contendo grupamentos alcóxila e cloro, vêm sendo

utilizados como agentes silanizantes na modificação química de adsorventes de sílica [13]. Este método apresenta algumas limitações quanto ao tempo, condições reacionais de atmosfera inerte e alta temperatura, além do uso de reagentes tóxicos e de custo elevado [30].

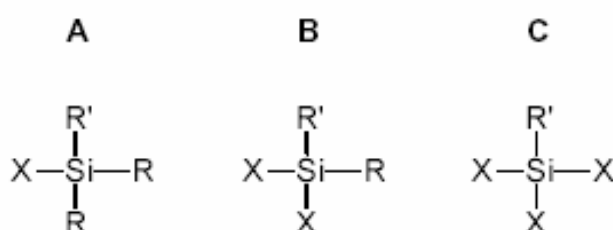


Figura 9. Tipos de silanos empregados na organossilanização de adsorvente de sílica: (A) monofuncional, (B) bifuncional, (C) trifuncional. R=CH<sub>3</sub>; R'= C<sub>8</sub>H<sub>17</sub> ou C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>; X= metoxila, etoxila ou cloro [13]

A modificação de fase estacionária cromatográfica por sorção ou imobilização é amplamente empregada e possui algumas vantagens sobre aquele quimicamente ligado. Apresentam maior poder de recobrimento dos sítios ativos do adsorvente evitando as interações indesejáveis com o analito e o ataque químico de fase móvel, são mais fáceis de serem preparados e possibilitam maior seletividade da fase estacionária pela escolha do polímero adequado. Algumas rotas de imobilização de polímero sobre suporte de óxido metálico têm sido empregadas através de radiação térmica, com ou sem iniciador, radiação de baixa e alta energia, microondas e raios gama, respectivamente, com formação de ligação cruzada e auto-imobilização. Alguns polímeros à base de silanos - poli(dimetilsiloxano) (PDMS), poli(metiloctilsiloxano) (PMOS), poli(metiloctadecilsiloxano) (PMODS), poli(metiltetradecilsiloxano) (PMTDS) – encontram aplicação como imobilizador de fase estacionária à base de sílica (Figura 10) [21,29, 31].

Collins e colaboradores [32] promoveram a auto-imobilização – que é o processo de adsorção baseado no surgimento de interação forte entre os componentes do adsorvente na ausência de tratamento térmico, irradiação ou qualquer tratamento adicional - de PMOS sobre a superfície da sílica para utilização em HPLC. Foi observado que o líquido polimérico é adsorvido à superfície da sílica, gerando uma

fase estacionária resistente e garantindo bons desempenhos cromatográficos. O autor constatou que o percentual de PMOS adsorvido à fase inorgânica aumentava conforme o tempo de exposição. O grau de adsorção foi acompanhado pela extração de PMOS em diferentes períodos de tempo, como mostrado na Tabela 4. Foi observado um crescimento gradual no percentual de polímero adsorvido com o decorrer do tempo. Os autores também concluíram que o tratamento térmico ou a presença de iniciadores na imobilização de adsorvente inorgânico não são fundamentais, pois resultados similares foram encontrados na ausência desses agentes.

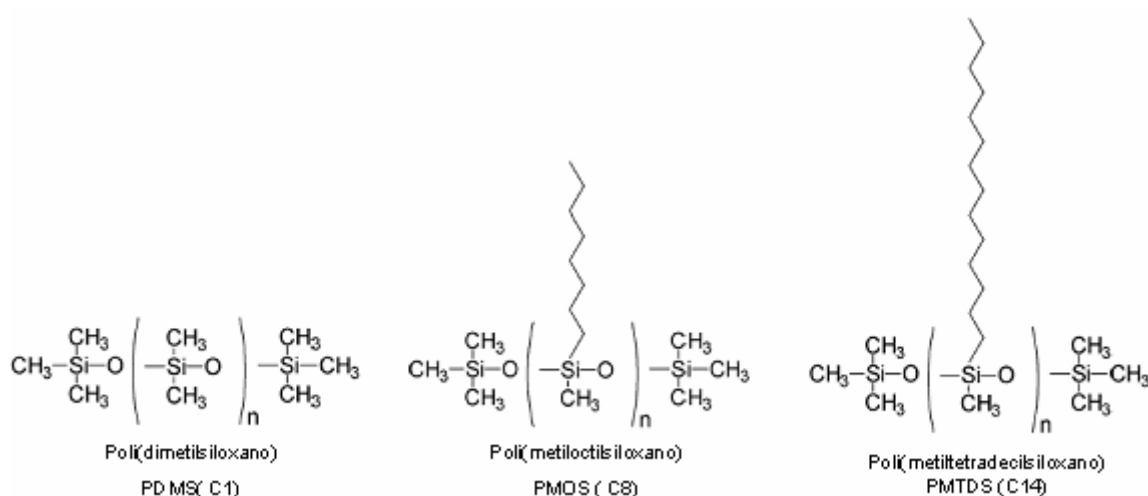


Figura 10. Estrutura polimérica de polissiloxanos utilizados como recobrimento de fase estacionária à base de sílica [31]

Tabela 4. Percentual de PMOS adsorvido à superfície da sílica com o tempo [32]

Tempo (dia)	% de C depois da extração *	$m_{\text{PMOS}}$ (final) ( $m_{\text{PMOS}} = g_{\text{PMOS}}/g_{\text{SiO}_2}$ )	Percentual de siloxano retido
1	2,45	0,041	12,1
2	4,05	0,069	20,6
3	4,30	0,074	22,0
4	4,93	0,086	25,5
7	5,02	0,088	26,0
10	6,01	0,107	31,7
17	6,70	0,121	35,6
24	7,43	0,136	40,2
31	6,98	0,127	37,4
60	7,93	0,146	43,3
119	8,64	0,162	47,8
149	8,33	0,155	45,8

Massa inicial específica: 0.35 g PMOS/g SiO<sub>2</sub>

\*Obtido por análise elementar

Tonhi e colaboradores [31] estudaram a influência de polissiloxanos no recobrimento da superfície da sílica considerando o percentual de polímero e o tamanho da cadeia hidrocarbônica (C1, C8 e C14), em condições selecionadas. Após a imobilização, o excesso de polímero foi retirado por extração e o adsorvente modificado foi utilizado como recheio de coluna cromatográfica. Na Tabela 5 são apresentadas as propriedades físicas de acordo com o tratamento térmico e o tempo aplicado na imobilização. Foi verificado que o percentual de polímero imobilizado foi maior em período de tempo prolongado e em temperatura mais elevada. Devido à alta estabilidade do PDMS, foi possível fazer a imobilização do adsorvente em temperatura mais elevada e menor tempo. Por apresentar menor resistência térmica, a imobilização do adsorvente baseado em PMOS foi realizada em temperatura inferior. Para o adsorvente à base de PMTDS, a melhor condição foi o aquecimento a 120 °C por 16 h.

Tabela 5. Caracterização física do adsorvente após imobilização [31]

	SiO <sub>2</sub> (PDMS)			SiO <sub>2</sub> (PMOS)			SiO <sub>2</sub> (PMTDS)	
	80°C	120°C	240°C	120°C	120°C	220°C	80°C	120°C
Tratamento térmico								
Tempo	30h	16h	4h	4h	16h	4h	30h	16h
%C *	9,1	10,5	11,9	14,5	23,3	21,0	18,4	20,6
Teor de polímero adsorvido (%)	28,2	32,2	37,2	23,4	37,6	34,0	26,2	30,2
Área específica (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	87	73	48	157	nd	34	97	78
Eficiência, acenafteno (N/m)	8600	94000	54000	61400	68400	nd	89400	95800
Eficiência, NN-dimetilfanilina (N/m)	70400	72400	46000	5500	48400	nd	75800	78200

nd: não determinado

\* obtido por análise elementar

O desempenho cromatográfico dos adsorventes foi avaliado na separação de mistura de compostos orgânicos, conforme mostrado na Figura 11. Os autores concluíram que os adsorventes recobertos com PMOS e PMDTS apresentaram separação



cromatográfica similar, apesar da fase de PMOS ter 7,4 % em massa de recobrimento polimérico. Isto significa que a quantidade de polímero de recobrimento foi inversamente proporcional ao tamanho da cadeia hidrocarbônica. O adsorvente à base de  $\text{SiO}_2$ (PMOS), preparado a 220 °C, não foi satisfatório na análise cromatográfica. As diferenças de desempenho entre os adsorventes poderiam estar relacionadas às diferentes propriedades de viscosidade, massa molar, tamanho de cadeia hidrocarbônica, dentre outras, dos polímeros siloxânicos.

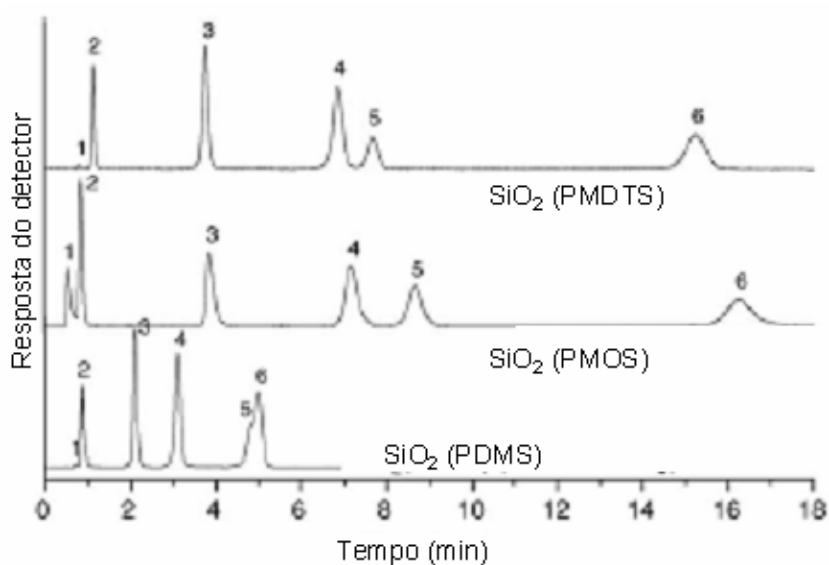


Figura 11. Análise cromatográfica dos adsorventes  $\text{SiO}_2$  (PDMS),  $\text{SiO}_2$  (PMOS),  $\text{SiO}_2$  (PMTDS), imobilizados a 120 °C por 16 horas [31]

Em trabalho similar, os mesmos autores [24] estudaram a deposição de PMOS sobre partículas de sílica, utilizando diversas rotas tais como a imobilização por radiação térmica, radiação de baixa e alta energia, microondas e raios gama, e auto-imobilização, respectivamente. Cada uma dessas rotas promove a imobilização de diferentes formas. A radiação gama pode produzir ionização junto com a formação de radicais livres. A radiação de microondas é um tipo de energia não-ionizante, cujo calor gerado no processo é oriundo do movimento molecular. A radiação térmica envolve normalmente interações de baixa energia com a produção de íons ou radicais livres. A auto-imobilização em temperatura ambiente pode envolver interações de baixa energia. Na Tabela 6 são apresentadas as propriedades dos adsorventes

produzidos. A fase estacionária não-imobilizada apresentou alto percentual de polímero porque não foi submetido ao processo de extração para remoção do excesso de PMOS. O adsorvente tratado termicamente apresentou a maior quantidade de polímero retido. Aqueles que foram immobilizados por radiação gama e microondas e o auto-immobilizado apresentaram baixos teores PMOS, após extração. Os autores concluíram que os diferentes processos de imobilização promovem fases estacionárias com diferentes quantidades de polímero adsorvido. Na Figura 12 é mostrado um modelo esquemático para os processos de imobilização, proposto pelos autores.

Tabela 6. Percentual de polímero retido no adsorvente em diferentes rotas [24]

	Fase estacionária					
	Não-immobilizado	Tratamento térmico: 220 °C 120 °C		Irradiado com: microondas	Irradiado com: radiação gama	Auto-immobilizado
Percentual de carbono*	33,7	21,0	14,5	9,5	12,4	5,8
Polímero (%) retido	54	34	23	15	20	9

\* Obtido por análise elementar

Jardim e colaboradores [26] obtiveram adsorventes sólidos à base de sílica, utilizando silano com cadeia hidrocarbônica contendo 18 carbonos (C18), preparados pela deposição de poli(metiloctadecilsiloxano) (PMODS) sobre sílica amorfa, sendo a imobilização conduzida por radiação gama, seguida de remoção do excesso de polímero com solvente. Segundo os autores, o método de preparação proposto conduz a materiais similares aos adsorventes comerciais, porém com vantagens relacionadas à preparação, tempo, custo e toxidez.

Em trabalho recente, Queiroz e colaboradores [25] descreveram a imobilização de polissiloxanos com cadeias hidrocarbônicas de diferentes tamanhos (C-4, C-8, C-18) sobre sílica para preparação de adsorventes sólidos, via tratamento térmico, radiação gama e através de microondas, visando uso em HPLC. Em todos os casos, a caracterização por ressonância magnética nuclear (NMR) no estado sólido comprovou

a imobilização dos polissiloxanos na superfície da sílica pelo intercruzamento das cadeias poliméricas e pela presença de ligação covalente entre o polímero e a sílica. Os autores observaram vantagens na metodologia empregada no que concerne à facilidade de obtenção dos materiais, menor número de etapas, menor custo de reagentes, boa reprodutibilidade e controle da temperatura e das demais condições de preparação.

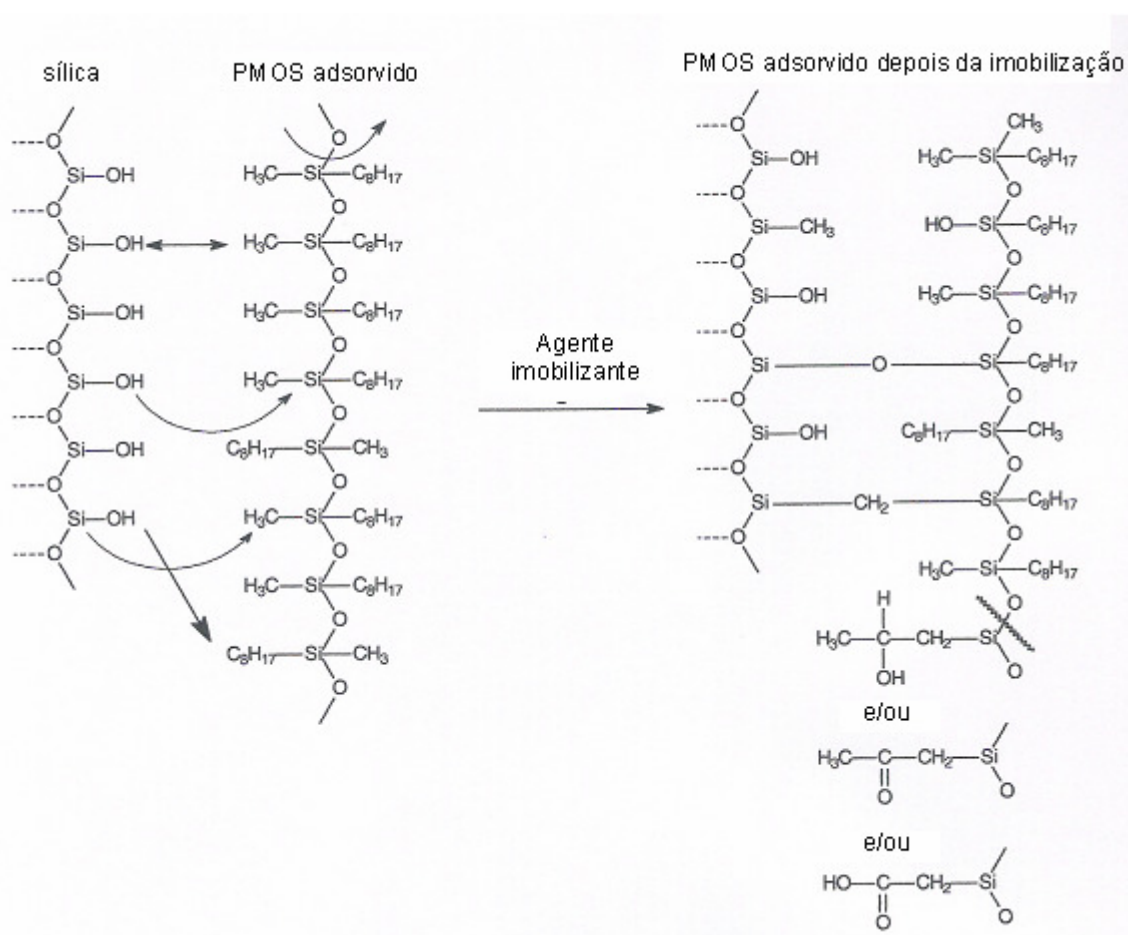


Figura 12. Modelo esquemático para os processos de imobilização [24]

Particularmente, nas duas últimas décadas, materiais híbridos orgânico/inorgânico têm atraído interesse crescente dos pesquisadores por combinarem as vantagens do polímero com as propriedades de partículas inorgânicas. Esses híbridos podem exibir novas e excelentes propriedades mecânica, química, elétrica, reológica, magnética, óptica e catalítica, através de alterações de composições, dimensões e estruturas dos componentes, garantindo assim, diversas aplicações. A tecnologia sol-gel é amplamente utilizada na obtenção de fases estacionárias à base de sílica híbrida.

Existem várias estratégias para a síntese de híbridos poliméricos via técnica sol-gel que, de maneira geral, envolve o crescimento de uma fase orgânica sobre outra inorgânica. O produto final, assim obtido, possui potencial aplicação na área cromatográfica.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

As etapas da parte experimental deste trabalho estão descritas nos itens a seguir

### 4.1 MATERIAIS

Os reagentes e materiais utilizados neste trabalho encontram-se relacionados abaixo. Os reagentes empregados eram de grau de pureza P.A. e foram utilizados como recebidos, com exceção da água que foi destilada no laboratório e da PA-6.

- Sílica-gel G60, procedência Vetec (5 $\mu$ m- 40 $\mu$ m), volume do poro (0,65 – 0,85mL/g);
- Poliamida-6 foi gentilmente cedida em forma de pó, pelo Grupo Radici; São José dos Campos, SP, Brasil;
- Gesso comercial, fabricado pela empresa Matriz do Porto, Caju, Rio de Janeiro, RJ, Brasil;
- $\beta$ -lapachona, quercetina e rutina, utilizados como analitos, foram gentilmente fornecidas pelo Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais. (NPPN-UFRJ);
- Metanol, procedência Vetec;
- Éter etílico, procedência Vetec;
- n-hexano, procedência Vetec;
- Água destilada;
- Placas de vidro 76,2 x 25,4 x 1,2mm;
- Tubo capilar;
- Becher;
- Placas de petri;
- Papel de filtro;
- Pipeta;
- Tubo de vidro com tampa.

## 4.2 EQUIPAMENTOS

Os seguintes equipamentos foram utilizados nesta dissertação. Com exceção da câmera fotográfica Benq, os restantes estão lotados no IMA/UFRJ.

- Microscópio ótico estéreo Olympus, modelo 52H10 acoplado à câmera fotográfica Nikon, 5.0 *megapixels*, modelo COOLPIX 5400;
- Câmera fotográfica Benq, 7.0 *megapixels*, modelo DC C750;
- Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Varian 3100 Excalibur Series<sup>a</sup>;
- Espectrofotômetro fluorescência de raios-X Rigaku, modelo RIX 3100<sup>b</sup>;
- Balança Bioprecisa FA2104N;
- Agitador magnético;
- Peneira de análise granulométrica PRODUTEST.

## 4.3 MÉTODOS

### 4.3.1 Espectroscopia no infravermelho da sílica-gel, PA-6 e do gesso

Visando a caracterização, os reagentes envolvidos na preparação da placa cromatográfica foram submetidos à análise de espectroscopia na região do infravermelho em equipamento Varian, modelo Excalibur 3100, acoplado com tratamento matemático à base de transformada de Fourier (FTIR), a partir de 40 varreduras e  $2\text{cm}^{-1}$  de resolução. Os espectros de sílica-gel e de PA-6 foram obtidos pela técnica de reflectância total atenuada, ATR, e o espectro do gesso foi obtido sob a forma de pastilha de KBr.

### 4.3.2 Fluorescência de Raios-X (XRF)

A sílica-gel, utilizada na preparação de placa cromatográfica, possui em sua composição certa quantidade de gesso que atua como adesivo para sua retenção no

suporte de vidro. Para quantificar teor de gesso na composição da sílica-gel utilizada neste trabalho, foi feita a análise de fluorescência de raios-X em equipamento Rigaku, modelo RIX 3100.

### 4.3.3 Preparação das placas cromatográficas

Antes de sua utilização, a PA-6 foi submetida à análise granulométrica em peneirador PRODUTEST, na tentativa de homogeneização de tamanho. No trabalho foram utilizadas partículas compreendidas entre 400-650 $\mu$ m. As composições foram preparadas considerando a mesma quantidade de massa em cada placa e o mesmo percentual de gesso.

Foram preparados híbridos de sílica-gel/PA-6 nas proporções 100/0, 80/20, 50/50, 20/80 e 0/100. A sílica e a PA-6, foram colocadas em becher juntamente com 4,0mL água destilada e submetidas à agitação magnética por aproximadamente 10 min. A placa cromatográfica foi obtida por vazamento da dispersão de cada mistura sobre um suporte de vidro, nivelado, mantendo-se a espessura constante. O adsorvente foi deixado em repouso por aproximadamente 48 horas, para a evaporação da água. A taxa de evaporação foi reduzida através de seu recobrimento por recipiente de vidro. Antes de sua utilização como adsorvente cromatográfico, as placas foram submetidas à secagem em estufa por cerca de 2 horas, até peso constante. Posteriormente, as placas cromatográficas foram submetidas à análise de TLC. Na Tabela 7 estão discriminados a massa de sílica-gel e PA-6 utilizadas na preparação do adsorvente.

Tabela 7. Distribuição de massa de sílica-gel e poliamida-6 utilizada na preparação das placas cromatográficas

Sílica-gel/PA-6 (%)	Sílica (g)	PA-6 (g)	Gesso (g)*
100/0	1,400	---	0,196
80/20	0,924	0,280	0,196
50/50	0,504	0,700	0,196
20/80	0,280	0,924	0,196
0/100	---	1,204	0,196

\*Representa 14% de gesso na sílica-gel (determinado por fluorescência de raios-x)

### 4.3.3.1 Analitos

Os analitos utilizados neste trabalho são fitoprodutos e foram utilizados individualmente ou em mistura, com proporções determinadas. A seleção foi feita considerando a disponibilidade, aplicação na indústria de fármacos e a presença de coloração, o que dispensaria o uso de agente revelador.

#### ➤ **$\beta$ -lapachona**

A  $\beta$ -lapachona (Figura 13) ( $C_{15}H_{14}O_3$ , MM 242,3), de nome químico 3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-naftol[1,2b]pirano-5,6-diona, é uma orto-naftoquinona isômera do lapachol que pode ser obtida em pequena escala, do ipê roxo, ou pau d'arco roxo (*Tabebuia avellanedae* *lor*), da família Bigoneaceae, ou ainda de árvores da família Verbenaceae, localizadas na América do Sul. É produzida, em larga escala, a partir do lapachol [33-36]. Apresenta aplicação farmacológica na atividade antibacteriana, antifúngica, antitripanossômica, inibição de crescimento de células de tumores de leucemia e câncer de próstata, redução da replicação de HIV-1, supressão de infecções agudas e crônicas, indução de alterações cromossômicas, inibição da atividade da DNA topoisomerase I e II, estimulante na geração de peróxido de hidrogênio intracelular e da lipoperoxidação, e potencial antineoplásico [37,38].

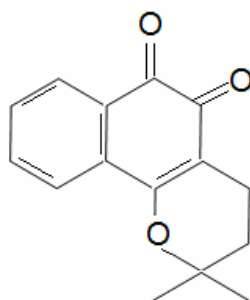


Figura 13. Representação esquemática da estrutura química da  $\beta$ -lapachona

#### ➤ **Quercetina**

A quercetina (Figura 14) pertence a uma classe de fitoprodutos, denominados de flavonóides, os quais podem ser encontrados em sementes e grãos de frutas e de



vegetais, ocorrendo ainda, em diferentes plantas medicinais. Esta classe de substâncias naturais apresenta um largo espectro de atividades bioquímicas e farmacológicas incluindo efeitos antioxidantes, vasodilatadores, antiinflamatórios, antialérgicos, antivirais e estimulantes do sistema imunológico [39]. Em particular, a quercetina está presente em vegetais como cebola, maçã, chá-preto, frutas cítricas bem como em pequenas quantidades em folhas verdes e feijões. Testes realizados mostraram potencial inibição do crescimento e da variabilidade de várias linhagens de células leucêmicas, redução na incidência de tumores do trato gastrintestinal e respiratório humanos, efeito antitumoral sobre o câncer do endométrio e redução de níveis glicêmicos, em diabéticos, devido a sua propriedade antioxidante que promove regeneração das ilhotas pancreáticas e conseqüentemente a liberação adequada de insulina. Atualmente a quercetina é comercialmente utilizada como 'suplemento alimentar', indicada para o tratamento de asma, doenças cardiovasculares, etc. [41,42].

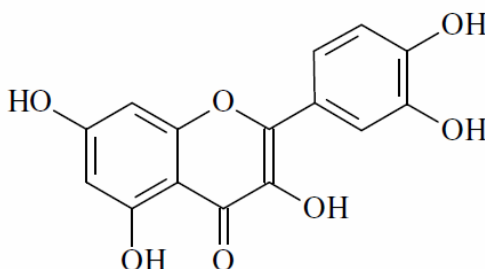


Figura 14. Representação esquemática da estrutura química da quercetina

### ➤ Rutina

A rutina (Figura 15) (quercetina 3-O-rutinosídeo) é também um flavonóide, composta por uma molécula de quercetina ligada a duas unidades glicosídicas, e que pode ser isolada de várias espécies de plantas. Suas principais fontes são *Sophora japonica* L., Fabaceae, uma árvore encontrada no norte e no centro da China e *Fagopyrum esculentum* Moench, *F. tataricum* (L) Gaertn., Polygonaceae, o trigo sarraceno. No Brasil a principal fonte é a *Dimorphandra mollis*, o fruto do faveiro. Atualmente, tem sido amplamente estudada visando à aplicação em formulações cosméticas e farmacêuticas, devido às suas propriedades antioxidantes e vasoprotetoras que promove uma melhora nos sintomas de insuficiência dos vasos linfáticos e venosos,

diminuindo a fragilidade capilar. Este flavonóide tem sido utilizado também como medicamento fitoterápico com a finalidade de melhorar a absorção da vitamina C e como coadjuvante no tratamento da hipertensão arterial. Estudos recentes reportaram a sua capacidade em promover aumento da lipase pancreática com conseqüente redução dos níveis de triacilgliceróis e da atividade hepatoprotetora. Também tem sido descrita em eventos associados ao sistema imunológico como inibidora de neoplasia e supressora do estresse oxidativo em leucócitos na artrite reumatóide. Foi também citada como auxiliar no aumento da atividade antibacteriana de outros flavonóides [39,42,43].

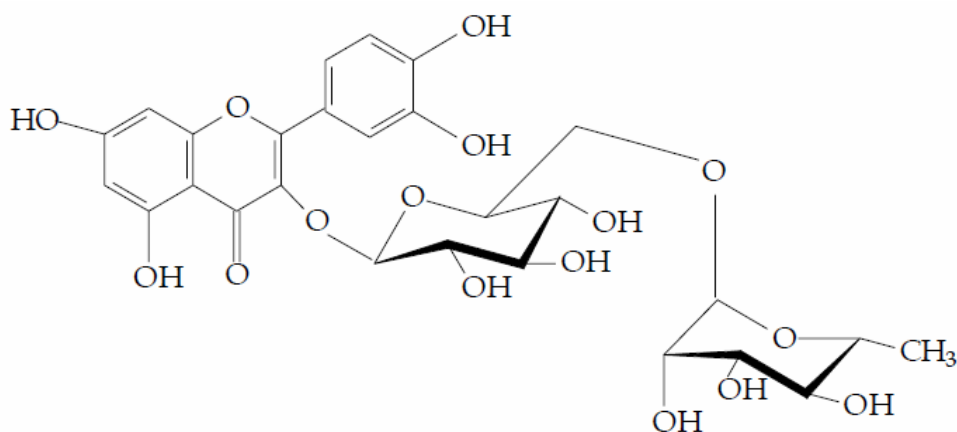


Figura 15. Representação esquemática da estrutura química da rutina

Os termos analito e fitoproducto foram considerados sinônimos e foram empregados ao longo do trabalho.

#### 4.3.3.2 Solventes

Os solventes utilizados, como fase móvel, foram éter, n-hexano e metanol. Sua seleção foi feita de acordo com o índice de polaridade - medida da capacidade de interação do solvente em diferentes analitos polares - e que pode determinar a polaridade relativa de solvente ou mistura de solventes [6, 44-48]. Foram utilizados individualmente ou em mistura, com proporções determinadas. As misturas empregadas foram metanol/n-hexano e metanol/éter nas proporções 90:10 e 75:25. O

índice de polaridade da mistura foi calculado com base na Equação 1 e encontram-se mostrados na Tabela 8.

Equação 1.

$$P'_{AB} = \Phi_A P'_A + \Phi_B P'_B$$

Onde:

$P'_{AB}$  = polaridade da mistura

$\Phi_A$  = Fração volumétrica de A

$\Phi_B$  = Fração volumétrica de B

$P'_A$  = índice de polaridade de A

$P'_B$  = índice de polaridade de B

Tabela 8. Índice de polaridade e poder de solvência de éter, n-hexano e metanol [6]

Solvente	Índice de polaridade, P'
n-n-hexano*	0,1
Éter dietílico*	2,8
Metanol*	5,1
Metanol/n-hexano (75:25)**	3,9
Metanol/n-hexano (90:10)**	4,6
Metanol/éter (75:25)**	4,5
Metanol/éter (90:10)**	4,9

\*valores citados na literatura; \*\* valores calculados segundo a Equação 1.

#### 4.4 CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA

O aparato para a condução da TLC consistia de uma câmara adaptada e da placa cromatográfica. A câmara cromatográfica era constituída de um bécher ao qual foram colocados 10mL do solvente apropriado e uma tira de papel de filtro, sendo o conjunto vedado com uma placa de Petri. Em paralelo, com o auxílio de uma pipeta capilar, três gotas da solução de um único analito ou mistura, em um único solvente ou mistura foram aplicadas sobre a base da placa, deixando-se o solvente evaporar entre as aplicações. Após essa etapa, a placa foi colocada dentro da câmara cromatográfica, mantendo-se o sistema fechado. A partir desse momento, foi iniciada a análise de

TLC cujo término foi considerado quando o solvente atingiu cerca de 80% do comprimento da placa. Para cada placa, foram avaliados o fator de retenção, o perfil cromatográfico através de fotografia digital e a morfologia por microscopia ótica.

Os termos adsorvente e fase estacionária são sinônimos e foram usados ao longo do trabalho.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE RETENÇÃO

A determinação do fator de retenção ( $R_f$ ), ou tempo de retenção, que avalia a mobilidade do analito na placa cromatográfica, depende da natureza química e da tensão superficial das duas fases além da viscosidade da solução formada pelo solvente e o analito. O valor de  $R_f$  foi calculado segundo a Equação 2:

$$R_f = \frac{D_2}{D_1}$$

Onde:

$R_f$  = Fator de retenção

$D_2$  = distância percorrida pelo analito

$D_1$  = distância percorrida pelo solvente

#### 4.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO E DA MORFOLOGIA DO ADSORVENTE APÓS A ANÁLISE DE TLC

A caracterização do híbrido de sílica-gel/PA-6, após a realização da TLC, visou observar o perfil de eluição do analito e a morfologia do adsorvente, através de fotografias em diferentes magnitudes.

#### 4.6.1 Avaliação do perfil cromatográfico

Fotografias digitais foram tiradas usando uma câmera fotográfica Benq, com o propósito de mostrar o percurso do analito sobre o adsorvente cromatográfico, procurando relacioná-lo com as prováveis interações existentes entre os componentes das fases.

Foram fotografadas placas cromatográficas em sistemas unitários e binários de analito e de solvente que encontram-se listados abaixo:

##### *Sistema unitário:*

- $\beta$ -lapachona, quercetina e rutina utilizando como fase móvel éter, n-hexano e metanol, respectivamente.

##### *Sistema binário:*

###### Substrato de composição 100/0

- $\beta$ -lapachona/rutina utilizando como fase móvel metanol;
- Quercetina/rutina utilizando como fase móvel metanol, metanol/éter (90:10) e (75:25), respectivamente.

###### Substrato de composição 80/20

- Quercetina/rutina utilizando como fase móvel metanol/n-hexano (75:25);
- $\beta$ -lapachona/rutina utilizando como fase móvel metanol/n-hexano (90:10) e (75:25), respectivamente;
- Rutina utilizando como fase móvel metanol/n-hexano (90:10) e (75:25), respectivamente.

###### Substrato de composição 20/80

- Quercetina/rutina utilizando como fase móvel metanol/n-hexano (75:25)

###### Substrato de composição 0/100

- $\beta$ -lapachona/rutina utilizando como fase móvel metanol;

- Quercetina/rutina utilizando como fase móvel metanol, metanol/éter (90:10) e (75:25), respectivamente.

#### **4.6.2 Microscopia ótica (OM)**

Esta análise teve como objetivo avaliar a morfologia do adsorvente e foi conduzida em um microscópio ótico estéreo, Olympus, modelo 52H10 acoplado a uma câmera fotográfica Nikon.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção, são descritos os resultados da caracterização da sílica-gel, da PA-6 e do gesso, a determinação do fator de retenção, o perfil cromatográfico dos analitos no adsorvente, a influência das interações entre os componentes das fases e a morfologia do adsorvente, considerando a composição do adsorvente.

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA SÍLICA-GEL, DA PA-6 E DO GESSO

Foram obtidos espectros na região do infravermelho dos constituintes do adsorvente (Figura 16) a partir das técnicas de transmissão e de reflectância, confirmando a estrutura química da sílica-gel, da PA-6 e do gesso. As principais absorções foram destacadas e estão descritas na Tabela 9 [49,50]. No espectro da sílica-gel não foram observadas as absorções do gesso devido à baixa transmitância.

### 5.2 AVALIAÇÃO DO FATOR DE RETENÇÃO

Nesta seção, a avaliação do fator de retenção com a composição do adsorvente é mostrada.

#### 5.2.1 Avaliação da eluição do solvente *versus* composição do adsorvente

Foi avaliado o tempo de retenção de cada solvente, considerando todas as composições do adsorvente, visando verificar a interação entre a fase móvel e a fase estacionária.

Na Figura 17 é mostrada a tendência do tempo de retenção de cada solvente com a composição do adsorvente, a partir dos valores obtidos experimentalmente, indicados na Tabela 10. Considerando o adsorvente com 100% de sílica, verificou-se que o tempo de retenção obedeceu à seguinte ordem - n-hexano < éter < metanol. As composições com até 50% de PA-6, observou-se que o tempo de retenção em

metanol apresentou uma tendência de aumento, indicando que neste solvente há maior interação da fase móvel com a estacionária. Inesperadamente, os tempos de retenção do éter e do n-hexano apresentaram valores similares, apesar de serem considerados solventes de média e baixa polaridade, respectivamente.

Para as composições com teor de PA-6 superior a 50%, foi verificada a queda abrupta do tempo de retenção de todos os solventes. Este resultado pode estar relacionado à menor interação dos solventes com a PA-6 e/ou à morfologia, forma e a dispersão de tamanho das partículas da poliamida.

A porosidade dos materiais é outro fator que poderia ser responsável pelo comportamento dos solventes em cada híbrido. A sílica-gel é altamente porosa ao contrário da PA-6, que se apresenta como uma macromolécula, constituída por um novelo aleatório de cadeias. Assim, os maiores tempos de retenção foram observados nos híbridos contendo até 50% em massa de sílica. Além disso, a porosidade teria ocasionado a similaridade dos tempos de retenção de éter e hexano nos híbridos estudados.

### **5.2.2 Avaliação do fator de retenção *versus* composição do adsorvente, na presença de diferentes solventes e analitos**

Nesta seção, é mostrada a variação do fator de retenção com a composição do adsorvente, considerando a fase móvel formada pelo analito e o solvente. É importante ressaltar que o tempo de retenção foi estabelecido baseado no término da eluição do solvente ao longo da placa cromatográfica, independente da eluição do analito, ou não, até o topo do adsorvente.

#### **5.2.2.1 Avaliação do fator de retenção dos analitos *versus* composição do adsorvente, em éter**

A Figura 18 mostra a tendência do fator de retenção com a composição do adsorvente, dos analitos em éter, considerando os valores listados na Tabela 11. Há um contraste entre o comportamento da  $\beta$ -lapachona e da quercetina e o da rutina.



Para os dois primeiros analitos, o  $R_f$  foi elevado enquanto para a rutina é praticamente igual a zero. Também pode ser aferido que o  $R_f$  é praticamente constante para cada analito, independentemente do teor de PA-6 no adsorvente. O resultado indicou que há uma grande interação química entre este solvente e os analitos,  $\beta$ -lapachona e quercetina, e mínima em relação à rutina. Se os três analitos estivessem em uma mistura ternária, seria possível a separação da rutina dos outros dois analitos.

#### **5.2.2.2 Avaliação do fator de retenção dos analitos *versus* composição do adsorvente, em n-hexano**

A tendência do fator de retenção com a composição do adsorvente, dos analitos em n-hexano, é mostrada na Figura 19, considerando os valores listados na Tabela 12. Neste solvente, de modo geral, em qualquer composição do adsorvente, não ocorreu o deslocamento dos analitos, exceto para a  $\beta$ -lapachona, nas composições a partir de 80% de PA-6. O resultado indicou que há pouca ou nenhuma interação química entre este solvente e os analitos.

#### **5.2.2.3 Avaliação do fator de retenção dos analitos *versus* composição do adsorvente, em metanol**

O comportamento do fator de retenção com a composição do adsorvente, dos analitos em metanol, é mostrado na Figura 20, considerando os valores listados na Tabela 13. Este parâmetro mostrou-se dependente da composição do adsorvente e do tipo de analito. De modo geral, em qualquer composição do adsorvente, houve o deslocamento dos analitos, exceção para a rutina, na composição 0/100. Os valores do fator de retenção para a  $\beta$ -lapachona mostrou pouca dependência com a composição do adsorvente. O valor do  $R_f$  da quercetina e da rutina apresentou grande dependência com a composição da fase estacionária. Há uma tendência de queda deste parâmetro para a quercetina à medida que o teor de PA-6 é aumentado na composição. No caso da rutina, este decaimento foi observado em híbridos com teor de PA-6 acima de 50%. Em qualquer das situações estudadas, a interação entre o metanol e a  $\beta$ -lapachona é maior do que aquelas que poderiam ocorrer entre este analito e os componentes do adsorvente. Os adsorventes ricos em PA-6 mostraram

grande interação com a quercetina e a rutina. Nos adsorventes contendo teor de PA-6 maior do que 50% seria possível fazer a separação da  $\beta$ -lapachona dos demais constituintes, em uma mistura ternária.

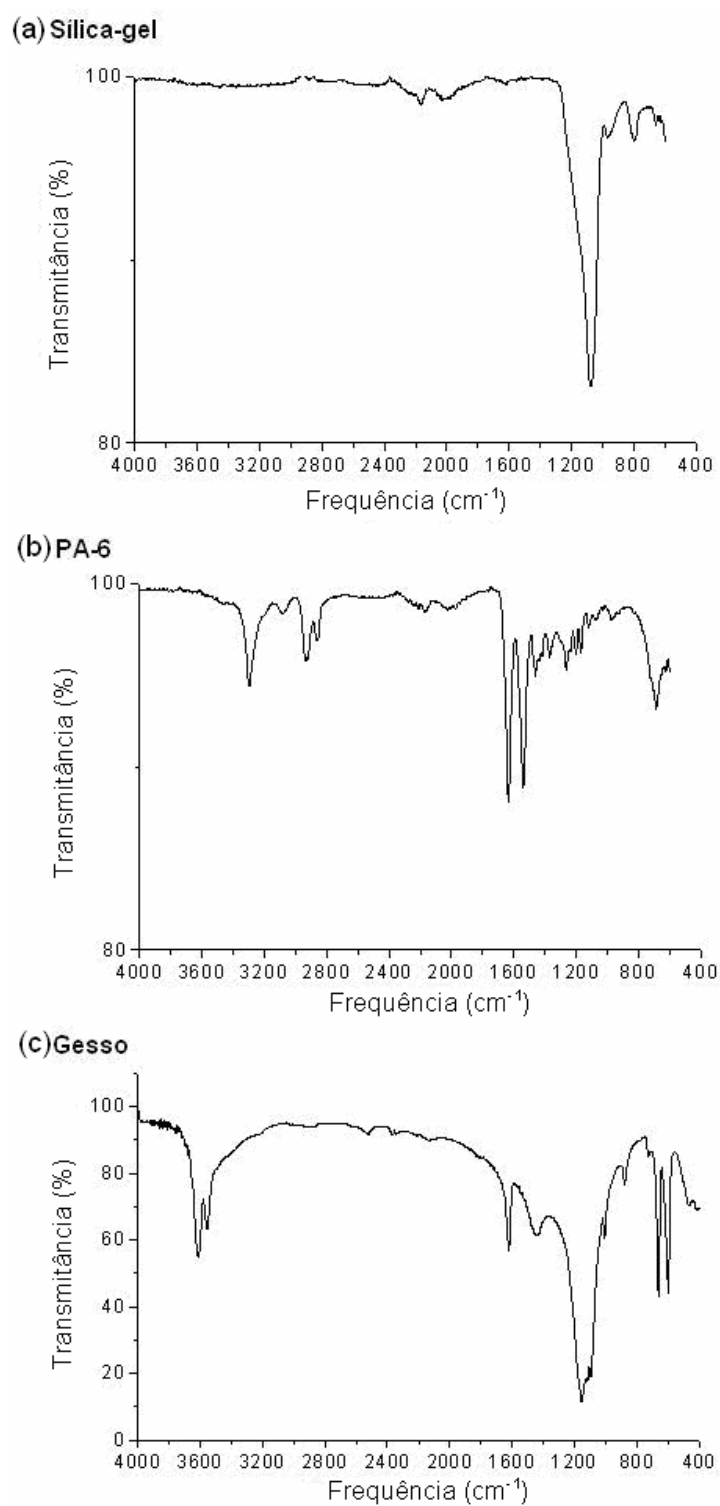


Figura 16. Espectros na região do infravermelho dos constituintes do adsorvente; (a) sílica-gel; (b) PA-6; (c) gesso.

Tabela 9. Principais absorções na região do infravermelho dos componentes do adsorvente

Componente do adsorvente	Frequência (cm <sup>-1</sup> )	Assinalamento	Modo de vibração
Sílica-gel	1070	Si-O-Si	Estiramento Si-O
	970	Si-OH	Deformação OH
	798	Si-OH	Estiramento OH
	657	Si-O-Si	Estiramento Si-O
PA-6	3288	NH <sub>2</sub>	Estiramento N-H
	1635	C=O	Estiramento C=O
	1536	H-N-C=O	Estiramento simétrico N-H
	1265	C-N	Deformação N-H Estiramento C-N
	685	NH <sub>2</sub>	Estiramento N-H
Gesso	3608	O-H	Estiramento O-H livre
	3552	O-H	Estiramento O-H combinado
	1622	O-H	Estiramento O-H
	1150	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Estiramento assimétrico S-O
	1080	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Estiramento assimétrico S-O
	661	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Deformação assimétrica S-O
	600	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Deformação assimétrica S-O

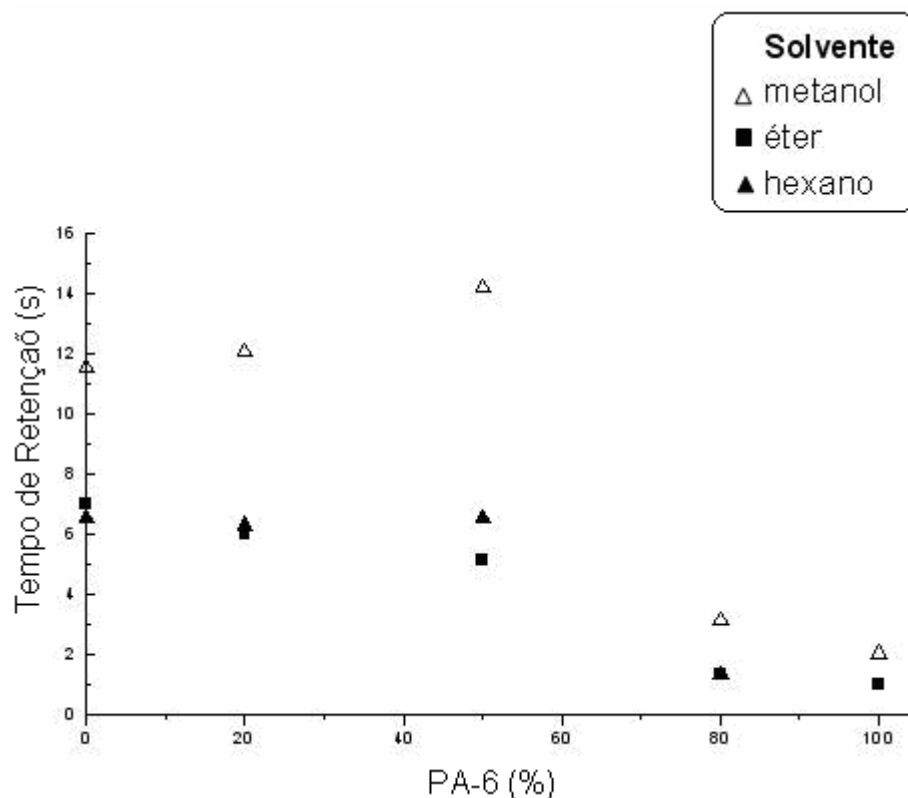


Figura 17. Tempo de retenção do solvente *versus* composição do adsorvente

Tabela 10. Tempo de retenção dos solventes nos diferentes adsorventes

Híbrido sílica-gel/PA-6	Solvente utilizado	Tempo de eluição (s)	Distância percorrida pelo solvente (cm)
100/0	Metanol	715	6,5
80/20	Metanol	729	6,8
50/50	Metanol	862	6,5
20/80	Metanol	195	5,7
0/100	Metanol	124	6,5
100/0	Éter	423	6,4
80/20	Éter	360	6,3
50/50	Éter	316	6,5
20/80	Éter	96	5,3
0/100	Éter	62	6,8
100/0	n-hexano	415	6,5
80/20	n-hexano	390	6,2
50/50	n-hexano	412	6,5
20/80	n-hexano	96	6,0
0/100	n-hexano	68	6,7

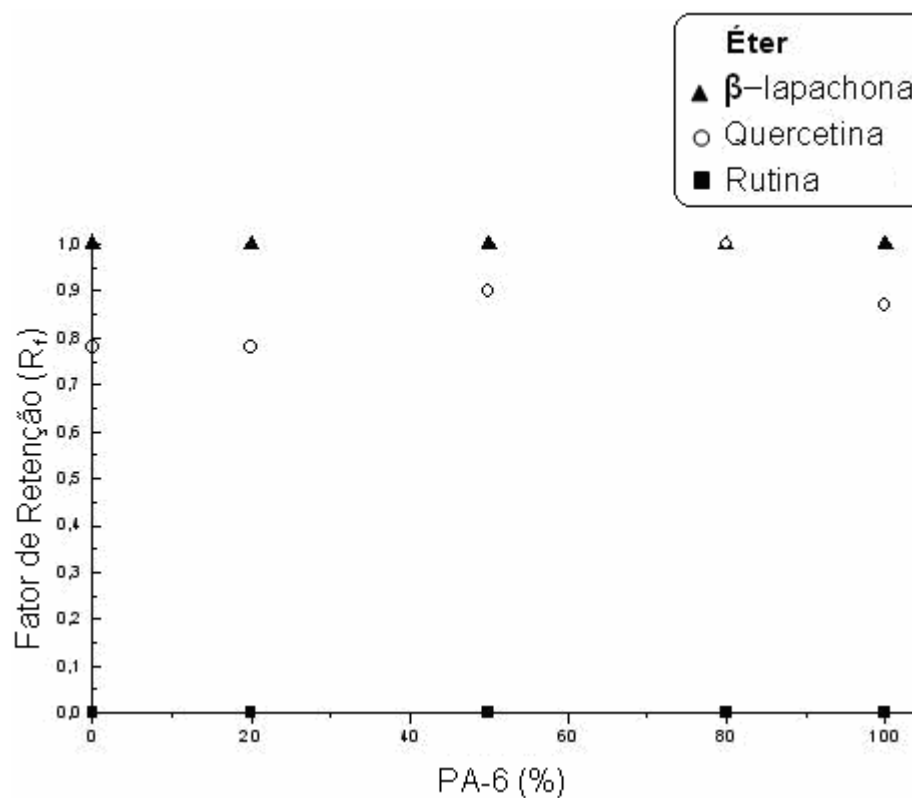


Figura 18. Fator de retenção *versus* composição do adsorvente, dos analitos em éter

Tabela 11. Distância percorrida pelo éter e pelos analitos

Híbrido sílica-gel/PA-6	Tempo de eluição (s)	Distância percorrida pelo solvente (cm)	Distância percorrida pelo analito (cm)	R <sub>f</sub>
<b>β-lapachona</b>				
100/0	594	5,7	5,7	1
80/20	639	6,0	6,0	1
50/50	648	6,0	6,0	1
20/80	104	5,5	5,5	1
0/100	147	5,8	5,8	1
<b>Quercetina</b>				
100/0	435	6,0	4,2	0,78
80/20	433	5,7	4,5	0,78
50/50	262	5,7	5,2	0,9
20/80	86	5,5	5,5	1
0/100	49	5,3	5,5	0,87
<b>Rutina</b>				
100/0	633	5,5	---	---
80/20	472	5,5	---	---
50/50	369	5,8	---	---
20/80	207	5,5	---	---
0/100	195	5,2	---	---

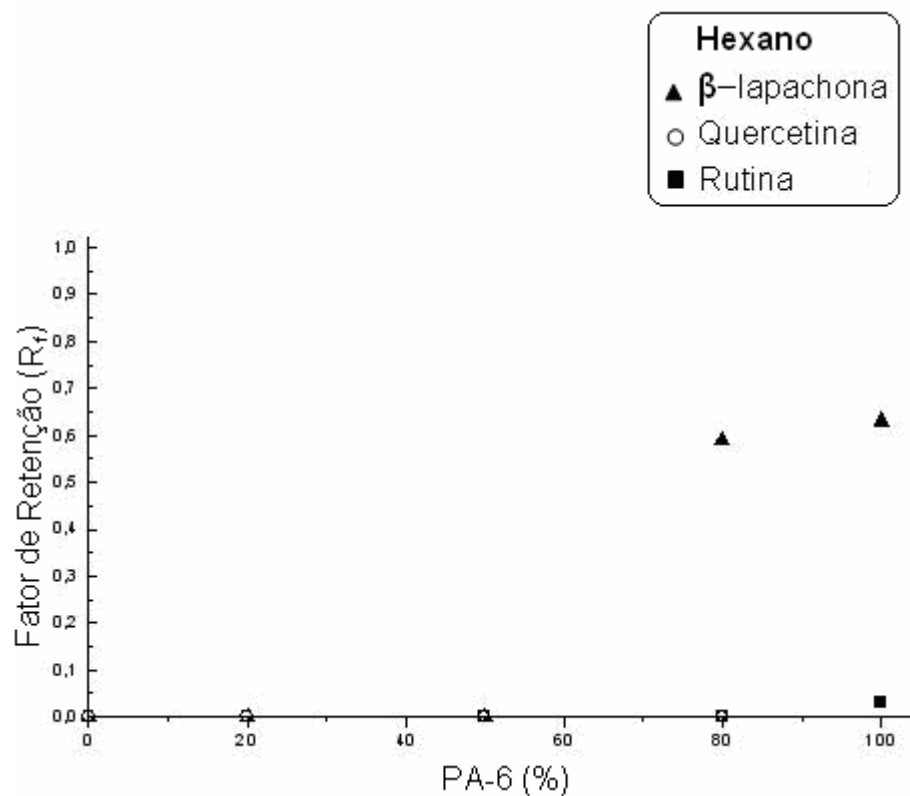


Figura 19. Fator de retenção *versus* composição do adsorvente, dos analitos em n-hexano

Tabela 12. Distância percorrida pelo n-hexano e pelos analitos

Híbrido sílica-gel/PA-6	Tempo de eluição (s)	Distância percorrida pelo solvente (cm)	Distância percorrida pelo analito (cm)	$R_f$
<b><math>\beta</math>-lapachona</b>				
100/0	430	5,7	---	---
80/20	367	5,5	---	---
50/50	375	5,8	---	---
20/80	87	6,2	3,7	0,59
0/100	137	5,5	3,5	0,63
<b>Quercetina</b>				
100/0	476	5,7	---	---
80/20	415	5,7	---	---
50/50	357	6,0	---	---
20/80	60	5,7	---	---
0/100	237	5,2	0,2	0,03
<b>Rutina</b>				
100/0	525	6,0	---	---
80/20	618	5,5	---	---
50/50	338	5,0	---	---
20/80	80	5,7	---	---
0/100	120	5,2	0,2	0,03

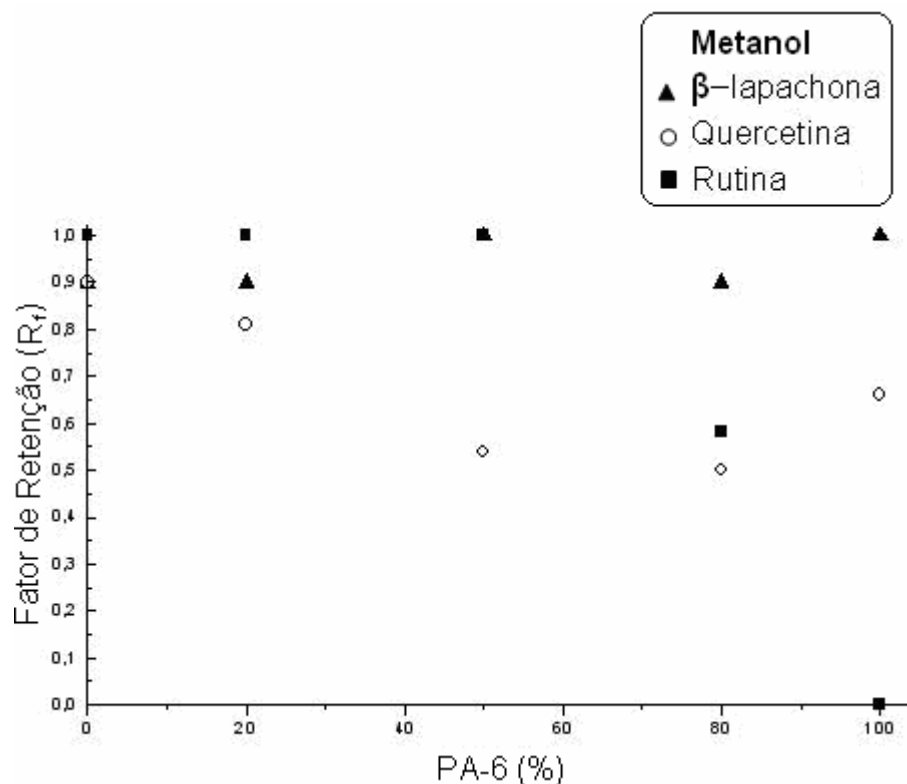


Figura 20. Fator de retenção *versus* composição do adsorvente, dos analitos em metanol

Tabela 13. Distância percorrida pelo metanol e pelos analitos

Híbrido sílica-gel/PA-6	Tempo de eluição (s)	Distância percorrida pelo solvente (cm)	Distância percorrida pelo analito (cm)	$R_f$
<b><math>\beta</math>-lapachona</b>				
100/0	660	5,5	5,0	0,9
80/20	680	5,2	4,7	0,9
50/50	718	5,5	5,5	1
20/80	382	5,5	5,0	0,9
0/100	399	5,3	5,3	1
<b>Quercetina</b>				
100/0	789	5,5	5,0	0,9
80/20	790	5,5	4,5	0,81
50/50	840	5,5	3,0	0,54
20/80	333	5,3	2,7	0,5
0/100	348	5,3	3,5	0,66
<b>Rutina</b>				
100/0	665	5,5	5,5	1
80/20	562	5,2	5,2	1
50/50	600	5,5	5,5	1
20/80	278	5,5	3,2	0,58
0/100	63	5,7	---	---

### 5.3 AVALIAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS ADSORVENTES PARA CADA PAR SOLVENTE-ANALITO

Nesta seção, foi avaliado o perfil cromatográfico de cada analito, em cada solvente, nos adsorventes, através de fotografia digital. Os analitos utilizados neste estudo apresentam cor característica e não houve a necessidade do uso de um agente revelador.

#### 5.3.1 Perfil cromatográfico do par éter- $\beta$ -lapachona

A Figura 21 mostra o perfil cromatográfico do par éter- $\beta$ -lapachona, em todas as composições do híbrido. Nas composições com até 50% de PA-6, houve o deslocamento do analito até o topo da placa cromatográfica. Em teores superiores de PA-6, o deslocamento também ocorreu porém foi observado que a maior parte do analito permanece concentrada na base do adsorvente além da presença de um rastro, ao longo da placa. Pelo perfil cromatográfico, é possível concluir que há uma acentuada interação entre o éter e o analito nos adsorventes 80/20 e 50/50. O aumento do teor de PA-6 desfavoreceu esta interação.

O éter, um solvente de média polaridade, ( $\epsilon_r = 4,34$ ), é capaz de desenvolver interações do tipo dipolo com a  $\beta$ -lapachona, conforme mostrado na Figura 22. Com o aumento do teor de PA-6 no adsorvente, há a formação de ligação hidrogênio entre a  $\beta$ -lapachona e a poliamida (Figura 23) que passou a predominar. Devido à maior energia da ligação hidrogênio em relação à interação dipolar, o deslocamento do analito foi dificultado.



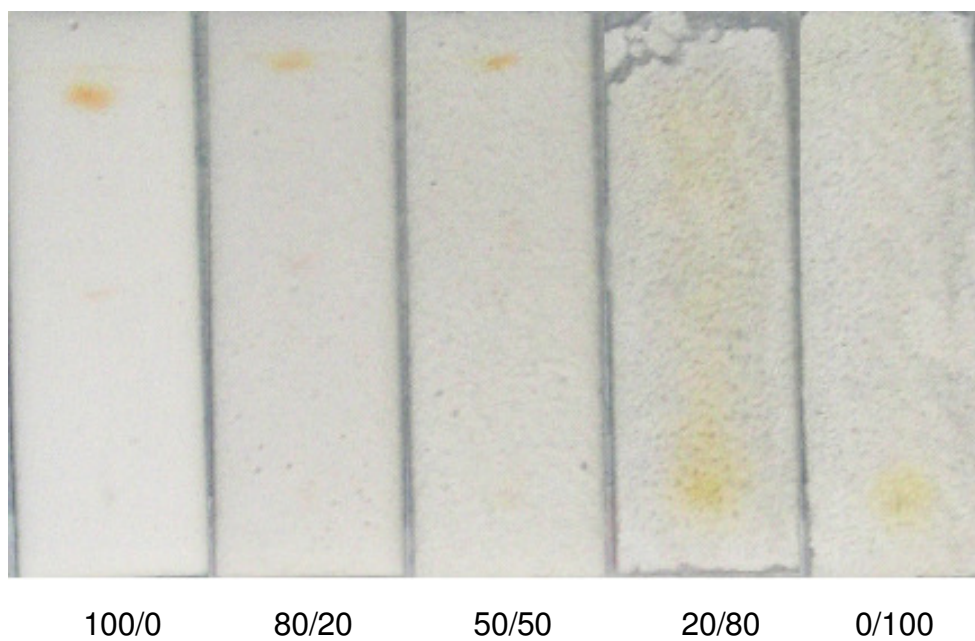


Figura 21. Perfil cromatográfico de  $\beta$ -lapachona utilizando éter como fase móvel

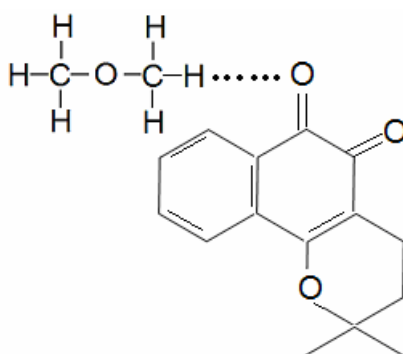


Figura 22. Representação esquemática da interação dipolar entre o par éter- $\beta$ -lapachona

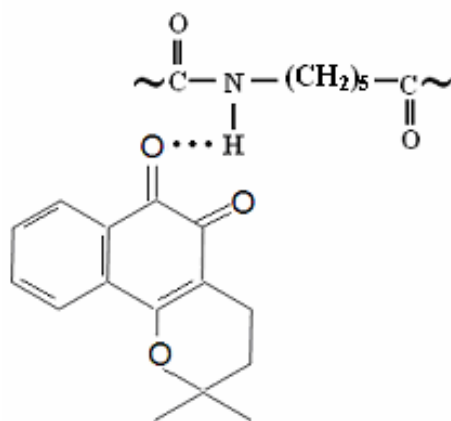


Figura 23. Representação esquemática da formação de ligação hidrogênio entre o par PA-6- $\beta$ -lapachona

### 5.3.2 Perfil cromatográfico do par éter- quercetina

Na Figura 24 é mostrado o perfil cromatográfico do par éter-quercetina, em todas as composições do híbrido. Nas composições com até 50% de PA-6, houve o deslocamento do analito até uma região ligeiramente inferior ao topo da placa sendo observada a formação de um rastro. Em teores superiores de PA-6, foi observado um rastro tênue estando a maior parte do analito retido na base do adsorvente. Pelo perfil cromatográfico, é possível inferir que há uma considerável interação entre o éter e o analito nos adsorventes 80/20 e 50/50. O aumento do teor de PA-6 desfavoreceu drasticamente esta interação.

Na representação esquemática da interação dipolar entre solvente e analito (Figura 25) e da formação de ligação hidrogênio entre substrato e analito (Figura 26), é possível observar que na estrutura química do analito há cinco grupamentos hidroxila e um grupamento carbonila disponíveis para interagir com os grupamentos silanóis da sílica e com os grupamentos amida na PA-6. Os resultados mostraram que a PA-6 é o componente com a maior afinidade com analito, pois cada grupamento amida é capaz de formar até duas ligações hidrogênio com a quercetina. Devido à maior energia da ligação hidrogênio em relação à interação dipolar ocorrida entre o par éter-quercetina,

praticamente não houve o deslocamento do analito nos adsorventes ricos em PA-6. Deve-se ressaltar que fatores como a forma, tamanho e distribuição, e dispersão das partículas da PA-6 no adsorvente podem ter influenciado neste comportamento.

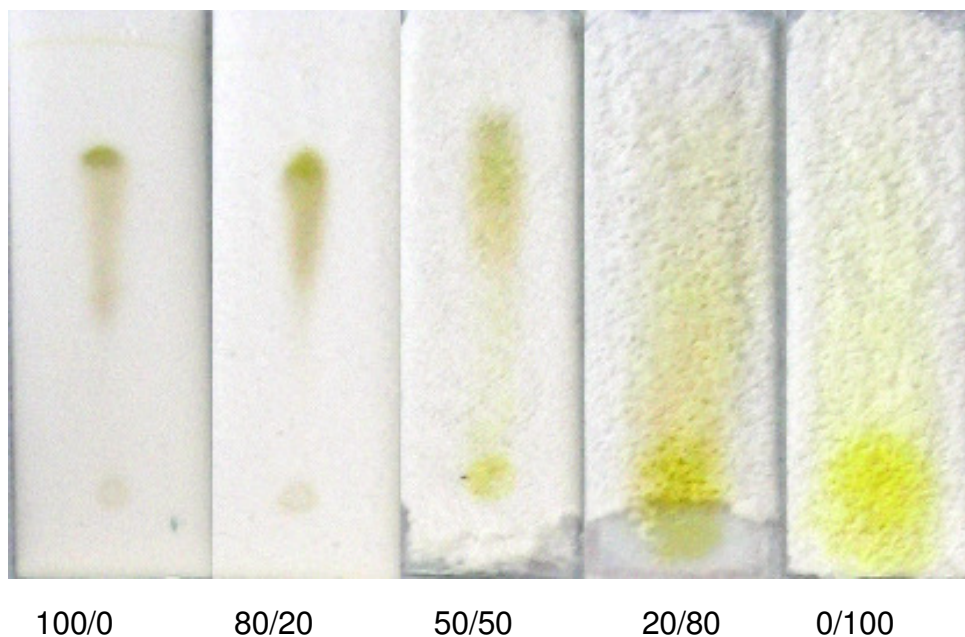


Figura 24. Perfil cromatográfico de quercetina utilizando éter como fase móvel

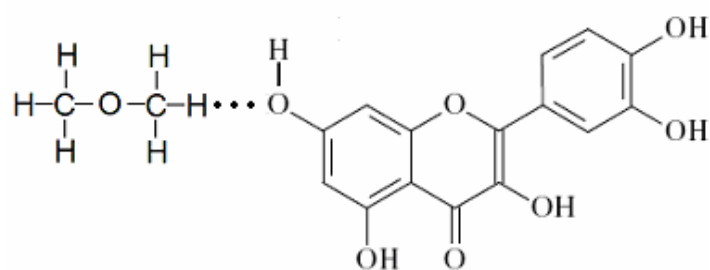


Figura 25. Representação esquemática da interação dipolar entre o par éter-quercetina.

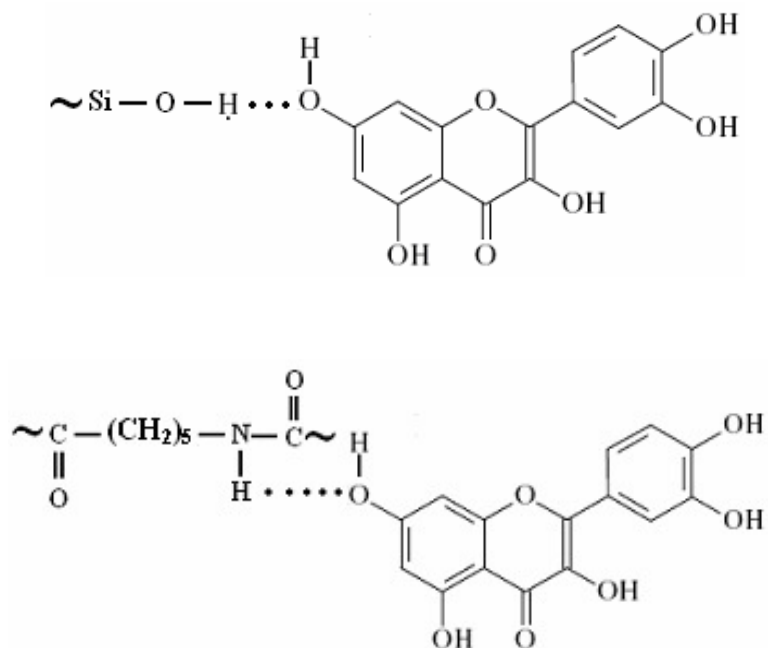


Figura 26. Representação esquemática da formação de ligação hidrogênio entre o par substrato-quercetina.

### 5.3.3 Perfil cromatográfico do par éter- rutina

O perfil cromatográfico do par éter-rutina, em todas as composições do híbrido, é mostrado na Figura 27. No substrato em base de sílica, notou-se a ascensão da rutina ao longo da placa. Nas composições contendo PA-6, a rutina ficou retida na base do adsorvente.

Conforme visto anteriormente, a molécula da rutina é composta por uma molécula de quercetina ligada a duas unidades glicosídicas, o que proporciona um aumento considerável dos grupamentos reativos para interagir com outros compostos polares. Sendo assim, esses grupamentos reativos seriam capazes de interagir com os grupamentos silanóis da sílica, impedindo a ascensão da rutina no adsorvente, porém isto não foi verificado. Isto poderia ser atribuído à adição das unidades glicosídicas à estrutura da quercetina as quais promovem um aumento da massa molar e uma mudança da disposição espacial dos átomos na molécula da rutina. Desse modo,

efeitos conformacionais poderiam impedir a interação entre os grupamentos reativos da sílica e da rutina favorecendo a formação de interação dipolar entre o éter e o analito (Figura 28), permitindo a sua eluição. Diferente da sílica, a poliamida é uma estrutura macromolecular, constituída por um novelo aleatório de cadeias, nas quais cada mero contém quatro pontos para a formação de ligação hidrogênio. Esta estrutura deve favorecer a formação deste tipo de ligação secundária com a rutina (Figura 29), promovendo a sua retenção na base do adsorvente.

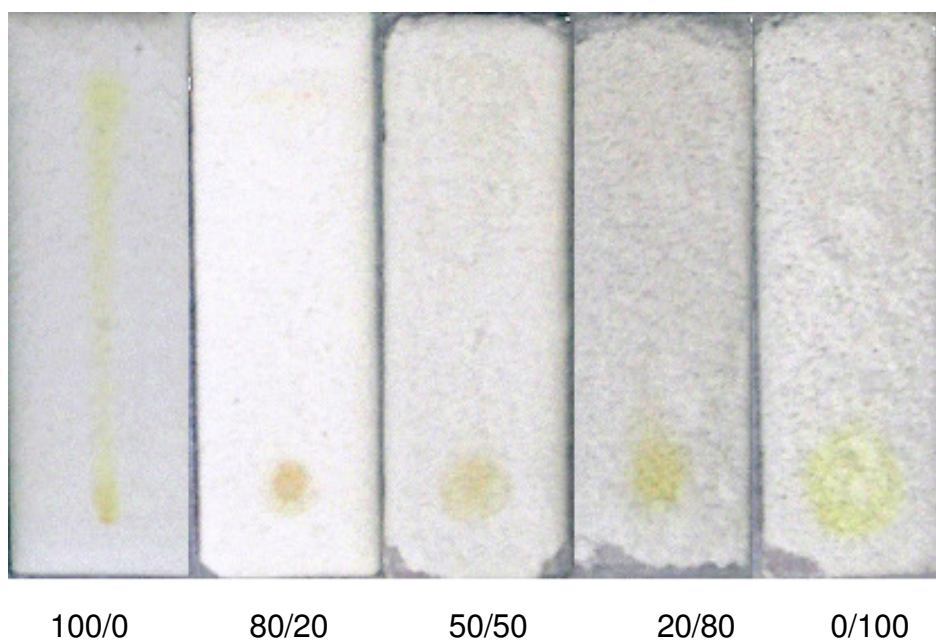


Figura 27. Perfil cromatográfico de rutina utilizando éter como fase móvel

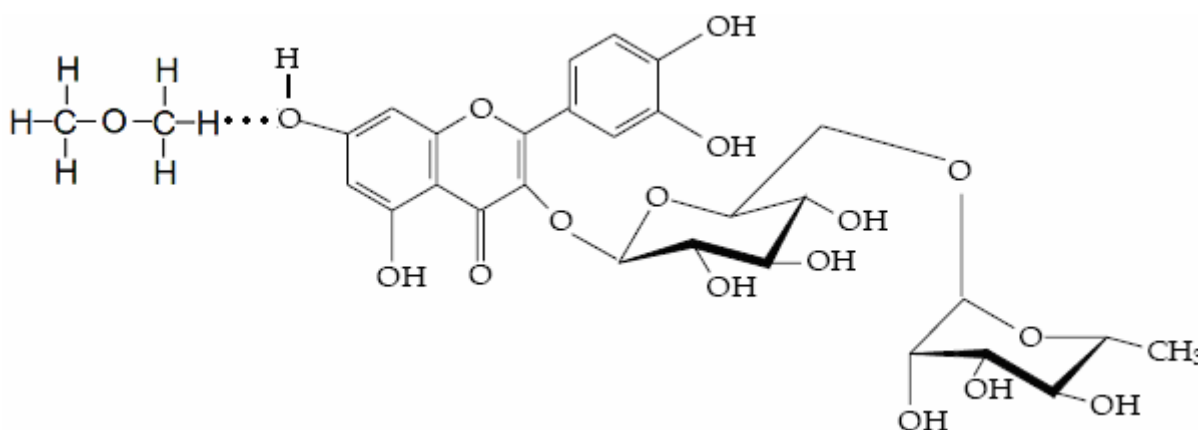


Figura 28. Representação esquemática da formação de interação dipolar entre o par éter-rutina.

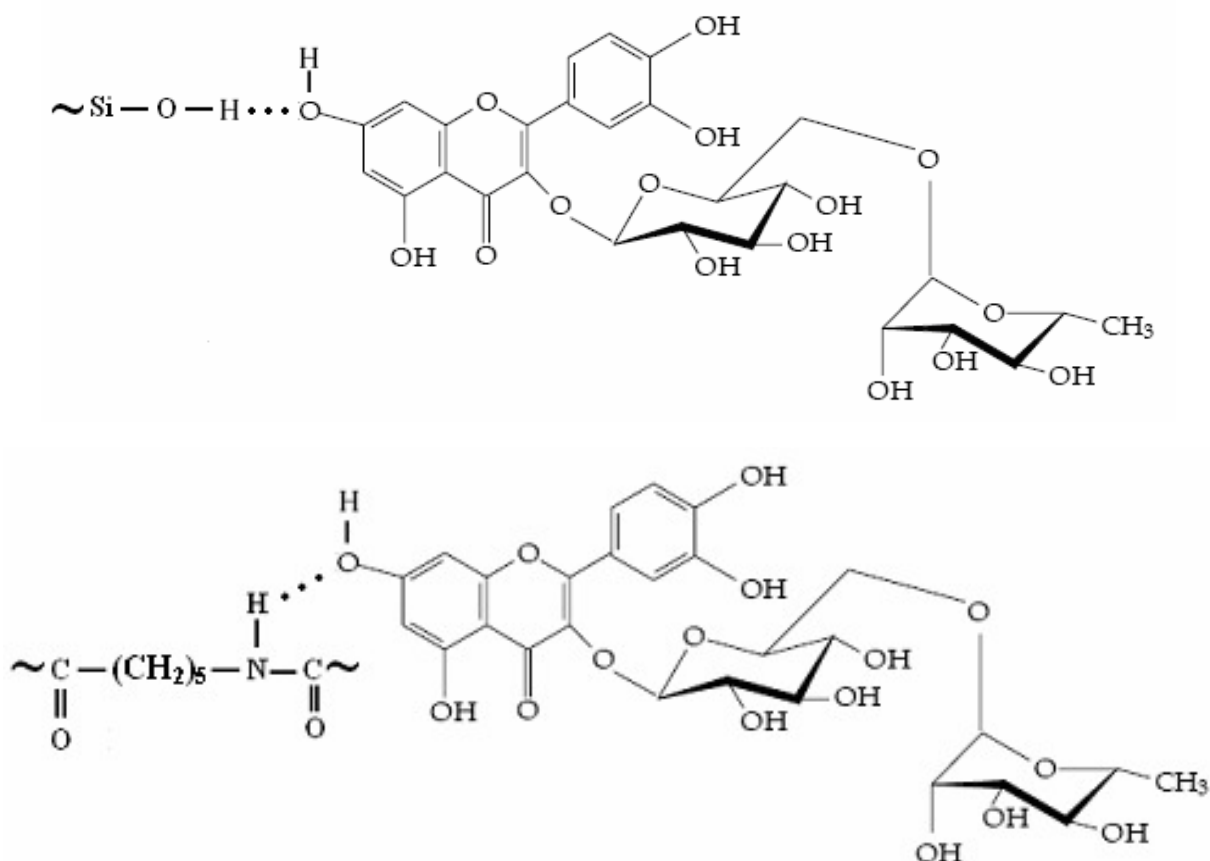


Figura 29. Representação esquemática da formação de ligação hidrogênio entre o par rutina-substrato

### 5.3.4 Perfil cromatográfico do par n-hexano-analitos

A análise do perfil cromatográfico dos pares n-hexano-analito revelou não haver deslocamento do analito, em quaisquer dos adsorventes. Pode-se concluir que a interação entre os constituintes da fase estacionária e o analito é infinitamente superior àquela entre solvente e analito. Para fins demonstrativos, na Figura 30 é mostrado o perfil cromatográfico do par n-hexano-quercetina. Como o n-hexano apresenta característica de solvente apolar ( $\epsilon_r = 1,89$ ), não foi possível a formação de interações secundárias com os analitos, substâncias com características extremamente polares.

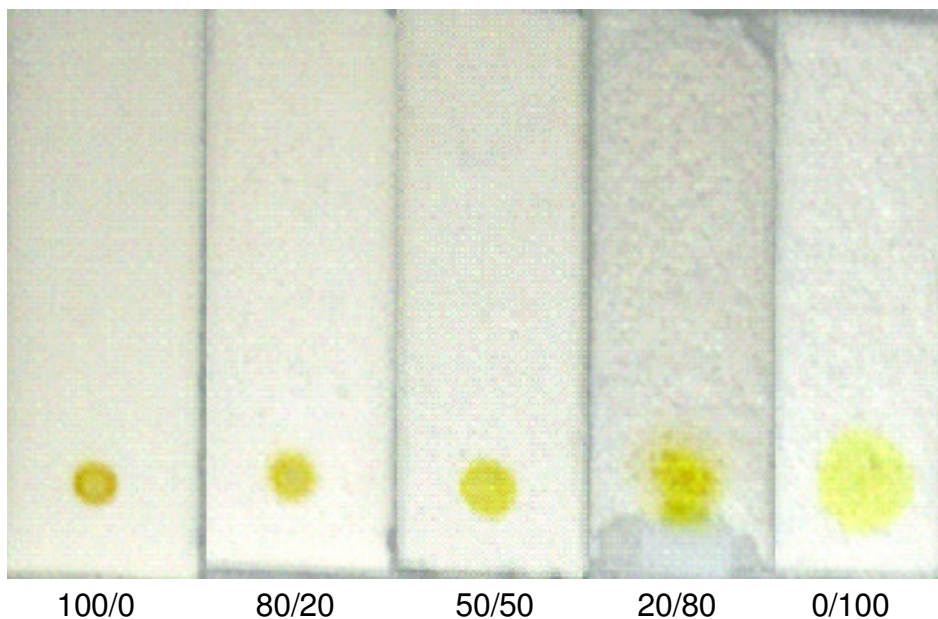


Figura 30. Perfil cromatográfico de quercetina utilizando n-hexano como fase móvel

### 5.3.5 Perfil cromatográfico do par metanol- $\beta$ -lapachona

A Figura 31 mostra o perfil cromatográfico do par metanol- $\beta$ -lapachona, em todas as composições do híbrido. Nas composições 100/0 e 80/20, foi observado o deslocamento do analito até o topo da placa cromatográfica. Em teores superiores de PA-6, o analito descreve o mesmo comportamento mas é notada a presença de um rastro. Em todos os casos, é possível concluir que há uma acentuada interação entre o metanol e o analito. Com o aumento do teor de PA-6, a interação analito/substrato é intensificada, se contrapondo àquela verificada entre solvente e analito, mas incapaz de evitar a ascensão do analito.

Tanto a interação metanol/analito (Figura 32) quanto a interação analito/PA-6 (Figura 23) podem produzir ligação hidrogênio. O metanol é um solvente com alta polaridade ( $\epsilon_r = 33,6$ ) e consegue de maneira efetiva diminuir a interação do analito com a PA-6, permitindo o deslocamento da  $\beta$ -lapachona ao longo do adsorvente.

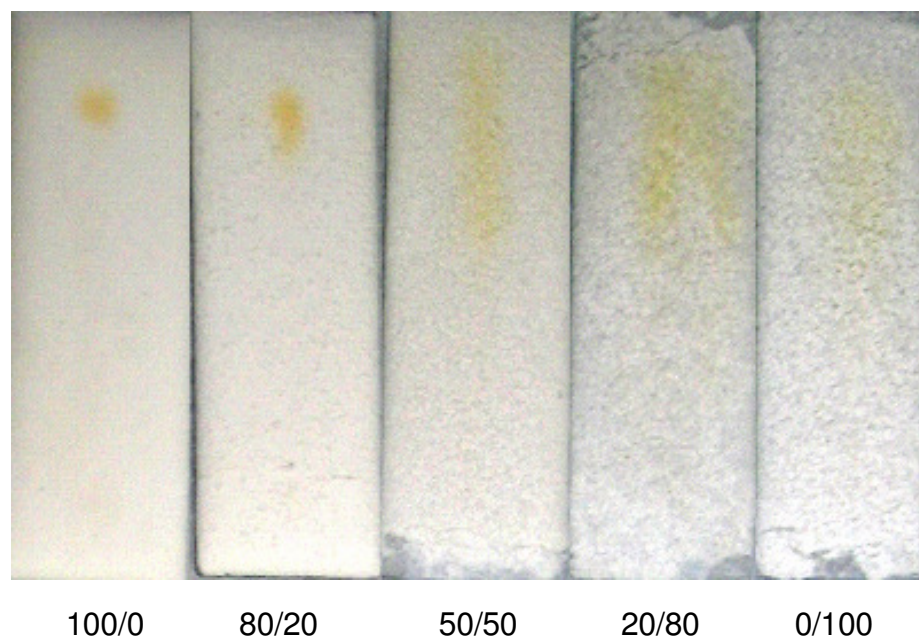


Figura 31. Perfil cromatográfico de  $\beta$ -lapachona utilizando metanol como fase móvel

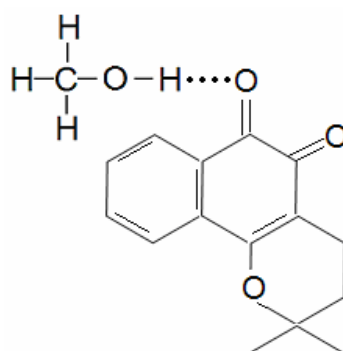


Figura 32. Representação esquemática da formação de ligação hidrogênio entre o par metanol- $\beta$ -lapachona

### 5.3.6 Perfil cromatográfico do par metanol-quercetina

O perfil cromatográfico do par metanol-quercetina, em todas as composições do híbrido, é mostrado na Figura 33. À medida que o híbrido foi enriquecido com a PA-6, o deslocamento do analito ao longo do adsorvente foi dificultado, estando compreendido entre a região mediana e a base do adsorvente; houve a formação de um rastro mais espalhado se comparado ao adsorvente à base de sílica. Este



comportamento poderia ser atribuído à forma, tamanho e distribuição, e dispersão das partículas da PA-6 no adsorvente. Estes fatores foram predominantes na interação entre o par analito-adsorvente (Figura 26) a despeito da ligação hidrogênio formada entre o par metanol/analito (Figura 34).

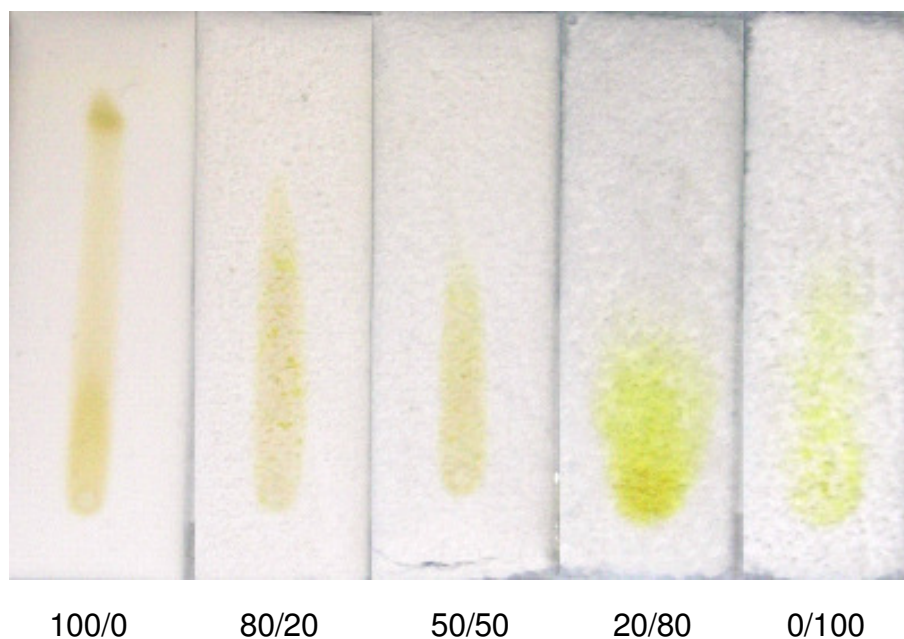


Figura 33. Perfil cromatográfico de quercetina utilizando metanol como fase móvel

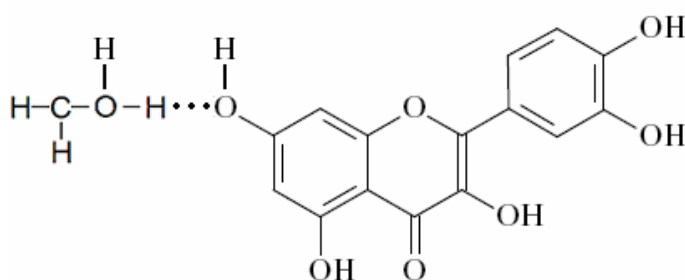


Figura 34. Representação esquemática da formação de ligação hidrogênio entre o par metanol-quercetina.

### 5.3.7 Perfil cromatográfico do par metanol-rutina

O perfil cromatográfico do par metanol-rutina (Figura 35) mostrou que, em qualquer composição do híbrido, há uma dificuldade no deslocamento do analito que se

difundiu para as regiões laterais do adsorvente. Realmente, constatou-se a presença de caminhos preferenciais – capilares – em quaisquer das composições. Apesar da acentuada interação entre o par metanol-rutina (Figura 36) que propiciaria o deslocamento do analito, os efeitos de forma, tamanho e distribuição, e dispersão das partículas da PA-6 no adsorvente predominaram no transporte do analito. Em conjunto ou individualmente, os fatores foram responsáveis pelo surgimento de caminhos vicinais, dividindo o fluxo, desde a base da placa cromatográfica, direcionando o deslocamento da rutina para as laterais.

Pela análise fotográfica foi constatado que, nas condições empregadas neste trabalho, o deslocamento dos analitos, sofreu além das interações solvente/analito e analito/adsorvente, a interferência da morfologia da sílica-gel e da PA-6. Tanto a sílica-gel quanto a poliamida-6 formam caminhos preferenciais, por onde há a difusão do analito. Para a sílica-gel, a maioria destes caminhos não são perceptíveis, devido a homogeneidade de forma e tamanho de suas partículas. Para a PA-6, a dispersão de forma e o tamanho de suas partículas propiciaram a formação de capilares heterogêneos, tornando este efeito mais acentuado, em alguns casos.

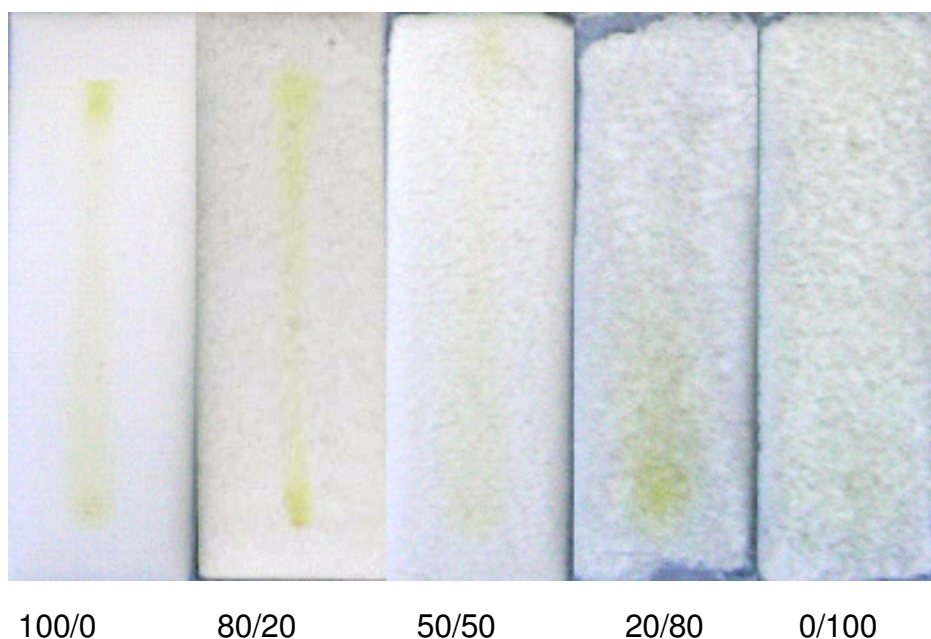


Figura 35. Perfil cromatográfico de rutina utilizando metanol como fase móvel

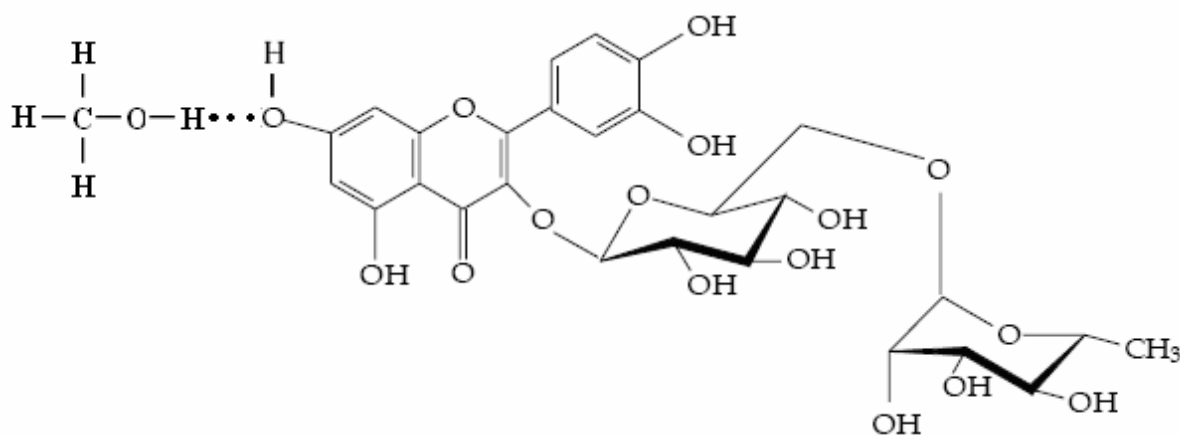


Figura 36. Representação esquemática da formação de ligação hidrogênio entre o par metanol-rutina.

#### 5.4 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO CROMATOGRÁFICO DOS ADSORVENTES EM SISTEMAS BINÁRIOS DE ANALITOS E DE SOLVENTES

Neste trabalho, já foram citados os valores do fator de retenção ( $R_f$ ) de cada analito, bem como sua localização e o perfil cromatográfico no adsorvente desenvolvido. Nesta seção, o desempenho cromatográfico de alguns híbridos em sistemas binários de analitos e de solventes é mostrado, visando avaliar os efeitos recíprocos de analitos e solventes em sistemas combinados.

Para facilitar a compreensão dos resultados, foi elaborada a Tabela 14, onde cada conjunto híbrido, analito e solvente foi considerado como um sistema. Foi avaliado o efeito do substrato sobre a mistura de fitoprodutos, em meio solvente isolado ou em mistura. Como os melhores resultados individuais foram encontrados para a composição sílica-gel/PA-6 80/20, foi feito um estudo do comportamento de pares de analitos e de solventes, neste adsorvente.

Tabela 14. Sistema híbrido, mistura de analitos e solventes.

Híbrido	Analito	Solvente	Sistema
100/0	$\beta$ -lapachona/rutina	Metanol	S <sub>1</sub>
	Quercetina/rutina	Metanol	S <sub>2</sub>
	Quercetina/rutina	Metanol/éter (90:10)	S <sub>3</sub>
	Quercetina/rutina	Metanol/éter (75:25)	S <sub>4</sub>
80/20	Quercetina/rutina	Metanol/n-hexano (75:25)	S <sub>5</sub>
	$\beta$ -lapachona/rutina	Metanol/n-hexano (90:10)	S <sub>6</sub>
	$\beta$ -lapachona/rutina	Metanol/n-hexano (75:25)	S <sub>7</sub>
	Rutina	Metanol/n-hexano (90:10)	S <sub>8</sub>
	Rutina	Metanol/n-hexano (75:25)	S <sub>9</sub>
20/80	Quercetina/rutina	Metanol/n-hexano (75:25)	S <sub>10</sub>
0/100	$\beta$ -lapachona/rutina	Metanol	S <sub>11</sub>
	Quercetina/rutina	Metanol	S <sub>12</sub>
	Quercetina/rutina	Metanol/éter (90:10)	S <sub>13</sub>
	Quercetina/rutina	Metanol/éter (75:25)	S <sub>14</sub>

#### 5.4.1 Efeito do substrato

Foram avaliados os seguintes pares de sistemas, conforme mostrado na Tabela 15.

Tabela 15. Pares de sistema híbrido, mistura de analitos e solventes.

Sistema	Composição do adsorvente	Solvente	Analito
S <sub>1</sub> e S <sub>11</sub>	100/0  0/100	Metanol	β-lapachona/rutina
S <sub>2</sub> e S <sub>12</sub>	100/0  0/100	Metanol	Quercetina/rutina
S <sub>3</sub> e S <sub>13</sub>	100/0  0/100	Metanol/éter (90:10)	Quercetina/rutina
S <sub>4</sub> e S <sub>14</sub>	100/0  0/100	Metanol/éter (75:25)	Quercetina/rutina
S <sub>5</sub> e S <sub>10</sub>	80/20  20/80	Metanol/n-hexano (75:25)	Quercetina/rutina

A Figura 37 apresenta as fotografias digitais dos sistemas S<sub>1</sub> e S<sub>11</sub>. No sistema S<sub>1</sub>, ocorreu a eluição do analito até o topo da placa, verificando-se o seu espalhamento. Quando observadas separadamente (Figura 31), neste mesmo solvente, a β-lapachona foi carregada até a região superior da placa enquanto que a rutina foi conduzida até à metade, deixando um rastro, sendo a maior parte do analito retido na parte inferior. Como não houve a ocorrência de rastro na mistura dos fitoprodutos, foi possível concluir que a presença da β-lapachona eliminou/diminuiu a interação da rutina com a sílica-gel. No sistema S<sub>11</sub>, verificou-se a presença de rastro por toda a superfície da cromatoplaça. Neste caso, apenas uma mancha contínua foi observada, não podendo distinguir um analito da outra. Assim, os substratos ricos em sílica-gel e PA-6 não foram eficientes na separação das misturas β-lapachona/rutina

A Figura 38 apresenta as fotografias digitais dos sistemas S<sub>2</sub> e S<sub>12</sub>. No sistema S<sub>2</sub>, ocorreu a eluição da amostra ao longo do substrato, deixando um rastro, sendo a maior parte do analito retido na parte inferior da placa. Neste mesmo solvente, o comportamento dos fitoprodutos, individualmente, foi semelhante. Assim, foi possível

concluir que não houve efeito de um analito sobre o outro. No sistema  $S_{12}$ , verificou-se que a maior parte do analito ficou retida no ponto de aplicação ocorrendo ainda o seu espalhamento, conforme verificado para os analitos individualmente. Assim, foi verificado que ambos os substratos interagem preferencialmente com os analitos em detrimento da interação delas com o solvente. Desta forma, podemos concluir que os sistemas  $S_2$  e  $S_{12}$  foram ineficazes na separação dos analitos.

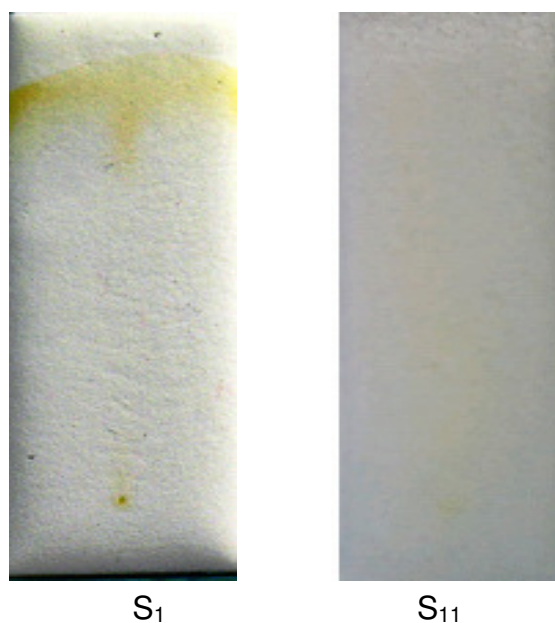


Figura 37. Fotografias digitais dos sistemas  $S_1$  e  $S_{11}$

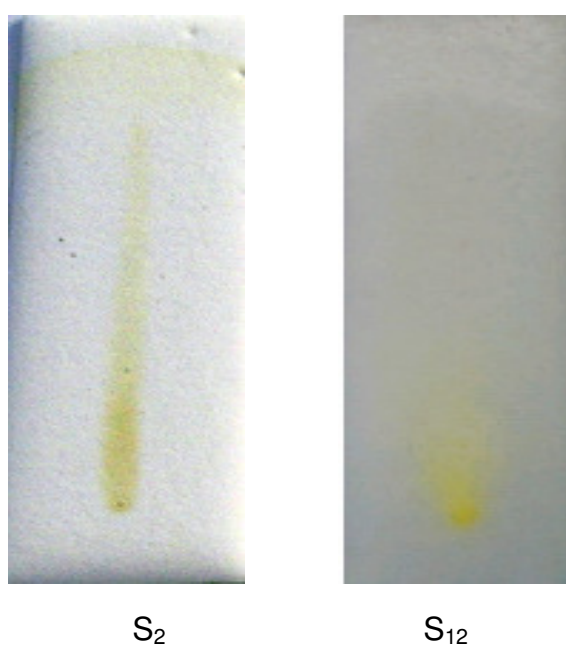


Figura 38. Fotografias digitais dos sistemas  $S_2$  e  $S_{12}$

As fotografias digitais dos sistemas  $S_3$  e  $S_{13}$  estão mostradas na Figura 39. No sistema  $S_3$ , foi observado o deslocamento dos analitos até o topo da placa, com a presença de um rastro contínuo e seu espalhamento. No sistema  $S_{13}$ , observou-se o espalhamento da amostra ao longo da placa adsorvente. Em ambos os casos, não foi observada a separação dos analitos. Para o substrato rico em sílica-gel, os analitos interagem preferencialmente com a fase móvel, sendo conduzidas até o topo da placa. O contrário foi verificado para o substrato rico em PA-6, no qual os analitos interagem em maior proporção com a fase estacionária. Pode-se concluir que os sistemas  $S_3$  e  $S_{13}$  foram ineficazes na separação dos analitos.



Figura 39. Fotografias digitais dos sistemas  $S_3$  e  $S_{13}$

Utilizando-se os substratos, sílica-gel/PA-6 100/0 e 0/100, foi feita uma nova tentativa de separação da mistura de quercetina/rutina, alterando-se os percentuais de metanol e éter, considerado como sistemas  $S_4$  e  $S_{14}$  (Figura 40). No sistema  $S_4$ , parece ter ocorrido a separação dos analitos. No meio da placa é possível observar uma mancha alongada enquanto no topo foi detectada outra mancha com certo espalhamento. Quando em fase móvel de polaridade elevada, ambos os analitos sofreram deslocamento ao longo do substrato. É provável que o substância deslocada até o topo da placa seja a quercetina porque individualmente, em éter como fase móvel, mostrou comportamento semelhante. Assim, a proporção de solventes utilizada foi eficaz na separação das analitos, mostrando que a separação não depende somente

da natureza da fase estacionária, mas também da fase móvel. No sistema  $S_{14}$ , ocorreu o deslocamento do analito até a parte superior da placa, mostrando rastro por todo o percurso. Não houve separação dos fitoprodutos. A causa da dispersão do analito foi atribuída a dispersão de tamanho da PA-6.

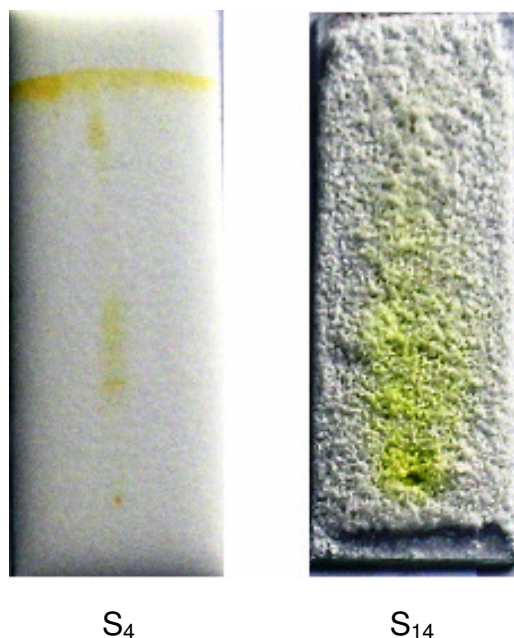


Figura 40. Fotografias digitais dos sistemas  $S_4$  e  $S_{14}$

Foi realizada a tentativa de separar a quercetina da rutina utilizando-se os substratos híbridos de sílica-gel/PA-6 80/20 e 20/80, em mistura binária de metanol e n-hexano, sendo os sistemas denominados  $S_5$  e  $S_{10}$  (Figura 41). Em ambos os sistemas, verificou-se que não houve separação dos constituintes da mistura ocorrendo um pequeno deslocamento dos fitoprodutos na placa sendo a maior parte retida na base. Independente da concentração da PA-6, a ineficácia de separação pode ser atribuída ao baixo poder de solvatação da mistura de solventes, a interação entre os analitos além da interação entre os analitos e a fase estacionária, que podem atuar individualmente ou em conjunto.

#### 5.4.2. Comportamento de solvente e analito no adsorvente sílica-gel/PA-6 (80/20)

Como revelaram melhores resultados individuais, foi feito um estudo no substrato sílica-gel/PA-6 (80/20) para verificar o comportamento de pares de analitos e de



solventes neste adsorvente. Foram avaliados os seguintes solventes e analitos neste substrato conforme mostrado na Tabela 16.

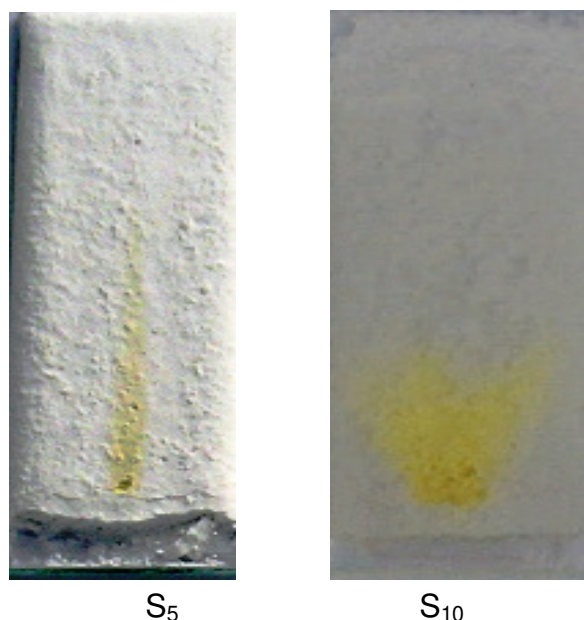


Figura 41. Fotografias digitais dos sistemas S<sub>5</sub> e S<sub>10</sub>

Tabela 16. Solventes e analitos no adsorvente sílica-gel/PA-6 (80/20)

Sistema	Composição do adsorvente	Solvente	Analito
S <sub>6</sub> e S <sub>7</sub>	80/20	Metanol/n-hexano (90:10) Metanol/n-hexano (75:25)	$\beta$ -lapachona/rutina
S <sub>8</sub> e S <sub>9</sub>	80/20	Metanol/n-hexano (90:10) Metanol/n-hexano (75:25)	Rutina

A Figura 42 apresenta a fotografia digital dos sistemas S<sub>6</sub> e S<sub>7</sub>. No sistema S<sub>6</sub>, ocorreu eluição do analito ao longo do substrato em dois pontos de concentração distinta, junto à base da placa e próximo da região mediana, observando-se ainda um rastro. Assim, não foi possível uma separação total entre os analitos para estas condições testadas. No sistema S<sub>7</sub>, no qual foi alterada a proporção entre os solventes, o comportamento foi semelhante. Houve a separação dos analitos, sem a ocorrência de

rastro. Presumiu-se que o analito localizada na região superior do adsorvente fosse a  $\beta$ -lapachona porque, individualmente, em metanol como fase móvel, mostrou comportamento semelhante. De fato, quando a rutina foi eluída separadamente, na mesma fase móvel, observou-se sua retenção na base da placa (Figura 43). Portanto, a mistura de  $\beta$ -lapachona e de rutina foi eficazmente separada na mistura de solventes metanol/n-hexano estudada, considerando o adsorvente de sílica-gel/PA-6 (80/20).

O estudo mostrou que não houve uma diferença significativa entre a sílica-gel e a PA-6 como adsorvente cromatográfico. A composição do substrato, da fase móvel e dos analitos devem ser consideradas em conjunto na análise de TLC.

## 5.5. MICROSCOPIA ÓTICA

A microscopia ótica foi utilizada com a finalidade de observar a dispersão dos materiais nas composições. Além disso, a técnica permitiu discutir a influência da forma, tamanho e distribuição de tamanho e a dispersão das partículas de PA-6 na análise de TLC.

Para ilustrar a dispersão dos componentes nos híbridos de sílica-gel/PA-6 na placa de vidro, foram selecionadas as fotomicrografias antes (Figura 44) e após (Figura 45) a análise de TLC, com a fase móvel constituída de metanol e o analito de quercetina.

No substrato contendo apenas sílica (Figura 44 (a) e 45 (a)), conforme esperado, observou-se a homogeneidade de forma, tamanho e distribuição de tamanho e a dispersão das partículas, ao longo do adsorvente. Apesar desta homogeneidade, foi observada a presença de material na base e no topo da placa além da presença de rastro, confirmando que fatores como a natureza da fase móvel e do analito podem interferir no perfil cromatográfico, e devem ser considerados.

À medida que a composição é enriquecida com PA-6, observou-se que a morfologia do substrato tornou-se grosseira em função da forma, tamanho e distribuição de

tamanho e a dispersão das partículas da poliamida (Figura 45). Não houve uma forma definida das partículas. O tamanho variou aproximadamente desde 200 até 500 micra. Não houve aglomeração das partículas de PA-6 e a sua dispersão na placa foi orientada pela não homogeneidade de tamanho. Nas fotomicrografias óticas das composições contendo PA-6 (Figura 45 (b-d)) foi também observado o aparecimento de manchas sobre a superfície das partículas da poliamida, em maior intensidade em relação às observadas para a composição contendo 100% de sílica. Isto é resultado da grande interação da PA-6 com os fitoprodutos estudadas neste trabalho.

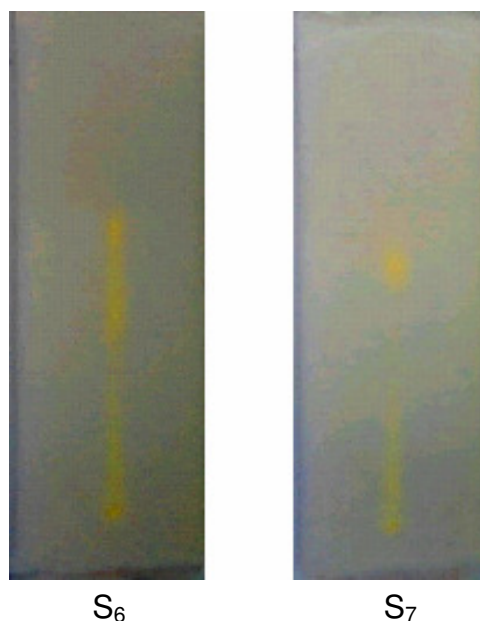


Figura 42. Fotografias digitais dos sistemas S<sub>6</sub> e S<sub>7</sub>

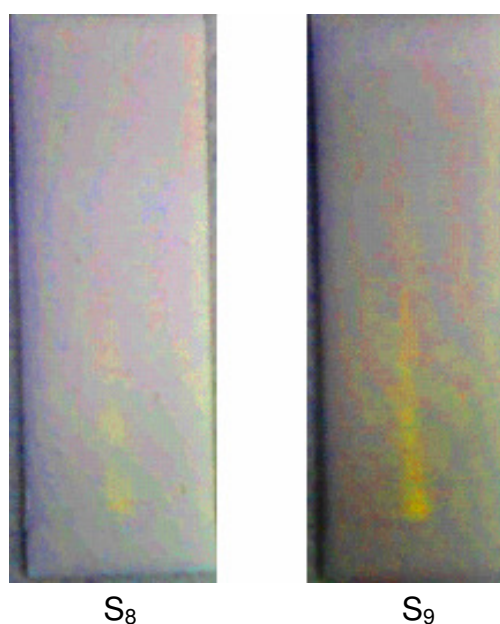


Figura 43. Fotografias digitais dos sistemas S<sub>8</sub> e S<sub>9</sub>

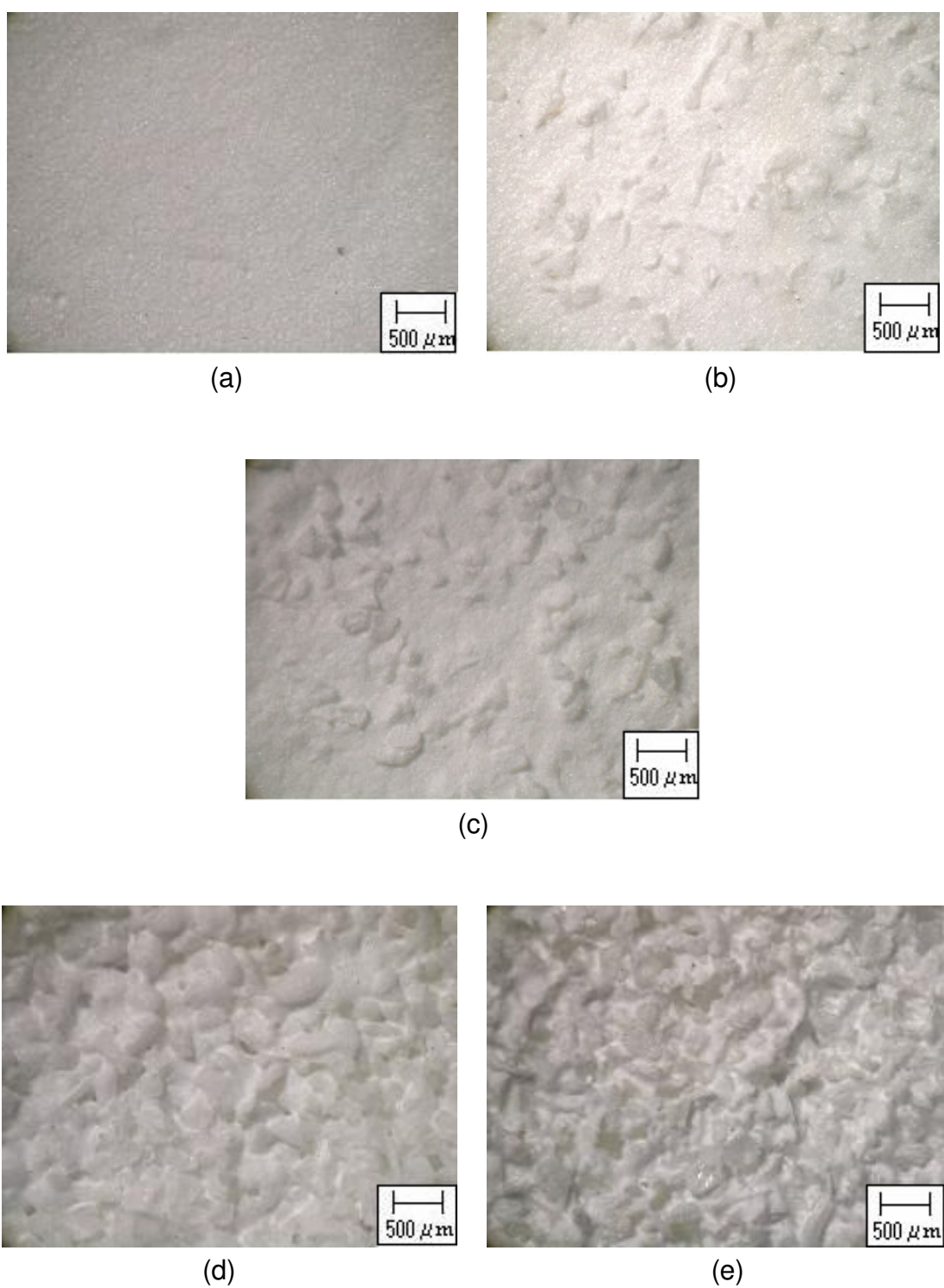


Figura 44. Fotomicrografia ótica de parte dos substratos estudados antes de sua eluição com metanol. (a) 0/100; (b) 80/20; (c) 50/50; (d) 20/80; (e) 0/100. Zoom 2,5

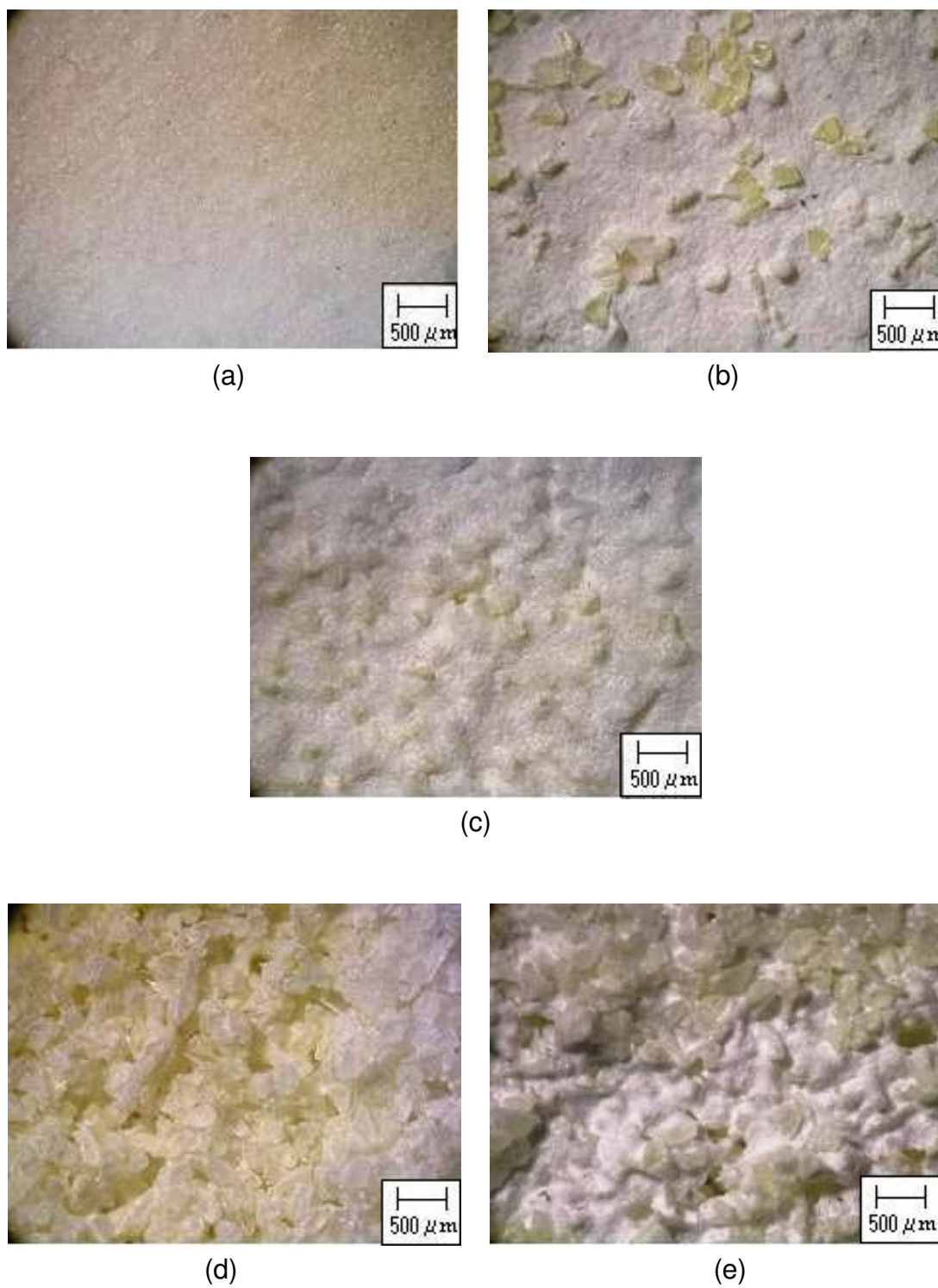


Figura 45. Fotomicrografia ótica de quercetina após sua eluição com metanol. (a) 0/100; (b) 80/20; (c) 50/50; (d) 20/80; (e) 0/100. Zoom 2,5

## 6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, híbridos de sílica-gel/PA-6, 100/0, 80/20, 50/50, 20/80 e 0/100, em massa percentual, foram preparados para aplicação em TLC. A natureza química das fases, a natureza química dos analitos, a forma e o tamanho dos componentes da fase estacionária foram considerados na avaliação do adsorvente para a aplicação em TLC.

### **A natureza química das fases:**

*Em relação ao solvente:*

- ✓ O melhor desempenho individual foi alcançado pelo éter – solvente de média polaridade - nos pares éter/  $\beta$ -lapachona e éter/quercetina;
- ✓ A mistura metanol/n-hexano mostrou-se eficaz na separação da mistura  $\beta$ -lapachona/rutina, no adsorvente sílica-gel/PA-6 (80/20).
- ✓ Assim, solvente de média polaridade bem como mistura de solventes com polaridades antagônicas podem ser capazes de carrear e/ou separar analitos com polaridades similares;

*Em relação à fase estacionária:*

- ✓ Neste trabalho, os híbridos com até 50% de PA-6 tiveram desempenhos semelhantes ao adsorvente tradicional, à base de sílica. Assim, uma nova aplicação foi encontrada para a PA-6.

### **A natureza química dos analitos:**

- ✓ Embora todos fossem de natureza polar, foi possível o deslocamento de analitos na placa cromatográfica e a separação de pares de analitos, individualmente ou em mistura de solventes.

**Forma e tamanho dos componentes da fase estacionária:**

- ✓ Estes foram os fatores limitantes na eluição e/ou separação dos analitos. Apesar de homogênea em forma e com pequena dispersão de tamanho, as partículas de sílica-gel mostraram grande interação com o analito, em alguns casos, visualizado pela presença de rastro ao longo do adsorvente. Possivelmente, a grande dispersão de forma e de tamanho das partículas de PA-6 foram determinantes para o baixo desempenho dos adsorventes com teor de poliamida acima de 50%;
- ✓ Todos estes fatores poderiam ter atuado isoladamente ou em conjunto e seriam responsáveis pela eficiência do adsorvente.

## 7. SUGESTÕES

- ✓ Sintetizar poliamida-6 na forma esférica e em tamanho semelhante ao da sílica cromatográfica;
- ✓ Estudar a eficiência de um novo adsorvente à base de polímero apolar;
- ✓ Estudar sistematicamente mistura de solventes para avaliar o poder seletivo do adsorvente;
- ✓ Utilizar analitos de baixa, média e alta polaridade para avaliar a eficiência de separação do novo adsorvente à base de PA-6;



## 8. REFERÊNCIAS

1. SILVA, E.P. **Desenvolvimento de Materiais Poliméricos para Uso em Cromatografia**. 2002. 89p. Dissertação (doutorado em Ciências/ Química de Produtos Naturais) – Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002. Orientador: Maria Auxiliadora Coelho Kaplan e Maria Inês Bruno Tavares.
2. COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P. S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 6 ed. Campinas: UNICAMP, 1995.
3. CABRERA, K., GERAU, G., JOST, W., KREBS, K.F. **Adsorbents for Chromatography and Adsorption Process**. US n. PI 5098576, 9 maio 1991.
4. COLON, A.L. **Silica Materials**. US n. 5869152, 9 fevereiro 1999.
5. SHAH, V.J. **Polymer Modified Porous Substrate for Solid Phase Extraction**. US n. 7311825, 25 dezembro, 2007
6. NETO, F.R.A., NUNES, D.S.S. **Cromatografia: Princípios Básicos e Técnicas Afins**. Rio de Janeiro: Interciência, 2003. 186 p.
7. KHAN, A., RIAZ, M., BUTT, S.B., ZAIDI, J.H. Novel modified alumina: Synthesis, Characterization and Application for Separation of Hydrocarbons. **Separation and Purification Technology**: 55, p. 396-399, march. 2007
8. CHEN, Y.C., CHIEA, J., SUNNER, J. Thin-layer Chromatography-mass Spectrometry Using Activated Carbon, Surface-assisted Laser Desorption/Ionization. **Journal of Chromatography A**: 826. p. 44-86, 1998.
9. STAHI, E.E. **Thin-layer Chromatography a Laboratory Handbook**. Berlin: Heibelberg, New York: Springer. 2nd ed. 1969.

10. PRADO, A.G.S., FARIA, E.A., PADILHA, P.M. Aplicação e Modificação Química da Sílica gel Obtida de Areia. **Química nova**: v.28, n.3, p.544-547, fev. 2005.
11. FRYXELL, G.E., WU, H., LIN, Y., SHAW, W.J., BIRNBAUM, J.C., LINEHAN, J.C., NIE, Z., KEMNER, K., KELLY, S. Lanthanide Selective Sorbents: Self-assembled Monolayers on Mesoporous Supports (SAMMS). **Journal Materials Chemistry**: 14, 3356, 2004.
12. SALES, J.A.A., PRADO, A.G.S., AIROLDI, C. Interaction of Divalent Copper with two Diaminealkyl Hexagonal Mesoporous Silica Evaluated by Adsorption and Thermochemical Data **Surface Science**: 590, 51- 62, 2005.
13. 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**. 2006. 182p. Dissertação (doutorado em Química Analítica) – Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006. Orientador: Carol Hollingworth Collins.
14. 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**: 790. p. 9-15. 1997.
15. HADJADJ-AOUL, O., BELABBES, R., BELKADI, M., GUERMOUCHE, M.H. Characterization and Performances of an Algerian Diatomite-based Gas Chromatography Support. **Applied Surface Science**: 240, p. 131-139, 2005.
16. WU, J., YANG, Y.S., LIN, J. Advanced Tertiary Treatment of Municipal Wastewater Using Raw and Modified Diatomite. **Journal of Hazardous Materials B**: 127. p. 196-203. 2005
17. GHAEDI, M., AHMADIB, F., TAVAKOLI, Z., MONTAZEROZOHORI, M., KHANMOHAMMADIC, A., SOYLAK, M. Three Modified Activated Carbons by Different

Ligands for the Solid Phase Extraction of Copper and Lead. **Journal of Hazardous Materials**: 152, p. 1248-1255, 2008.

18. LEBODA, R., LODYGA, A., GIERAK, A. Carbon Adsorbents as Materials for Chromatography. I Gas Chromatography. **Materials Chemistry and Physics**: 51, p. 216-232. 1997

19. GAUDET, G.T., KYRLIDIS, A. **Material for Chromatography**. US n. 7195713, 27 março 2007.

20. LI, H., JIAO, Y., XU, M., SHI, Z., HE, B. Thermodynamics Aspect of Tannin Sorption on Polymeric Adsorbents. **Polymer**: 45, 181–188, 2004

21. BOTTOLI, C.B.G., CHAUDHRY, Z.F., FONSECA, D.A., COLLINS, K.E., COLLINS, C.H. poly(alkylmethylsiloxanes) Thermally Immobilized on Silica as Stationary Phases for High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Chromatography A**: 948. p. 121-128. 2002.

22. MCCALLEY, D.V. Comparison of an Organic Polymeric Column and a Silica-based Reversed-phase for the Analysis of Basic Peptides by High-performance Liquid Chromatography. **Journal of Chromatography A**: 1073, p. 137-145, 2005

23. ADACHI, T., ISOBE, E. Use of Sintetic Adsorbents in Preparative Normal-phase Liquid Chromatography. **Journal of Chromatography A**: 989, p. 19-29, 2003

24. TONHI, E., BACHMANN, S., ALBERT, K., JARDIM, I.C.S.F, COLLINS, K.E., COLLINS, C.H. High-performance Liquid Chromatography Stationary Phases Based on Poly(methyloctylsiloxane) Imobilizaed on Silica. I. Physical and Chemical Characterizations. **Journal of Chromatography A**: 948, p. 97-107, 2002

25. QUEIROZ, S. C. N., MELO, L. F. C., JARDIM, I.C.S.F. Novos Sorventes Baseados em Poli(metiloctilsiloxano)sobre Sílica para Uso em Cromatografia. **Química Nova**: v.29, n. 4, p. 637-640, mar. 2006.

26. JARDIM, I.C.S., QUEIROZ, S.C.N., MELO, L.F.C. S. Poly (methyloctadecylsiloxane) Immobilized on Silica by  $\gamma$ -radiation for Use in Solid-phase Extraction. **Journal of Chromatography A**: 948, p. 171-176, 2002
27. PAENG, K.J., LEE, M., OH, S. Y., PATHAK, T. S., PAENG, I.R., CHO, B.Y. Selective Solid-phase Extraction of Catecholamines by the Chemically Modified Polymeric Adsorbents with Crown Ether. **Journal of Chromatography A**: 1160, p. 340-344, 2007.
28. WALTER, T.H., DING, J., KELE, M., O'GARA, J.E., IRANETA, P.C. **Porous Inorganic/Organic Hybrid Monolith Materials for Chromatographic Separations and Process for their Preparation**. US n. 7250214, 14 agosto 2003.
29. LI, S., SHAH, A., HSIEH, A.J., HAGHIGHAT, R., PRAVEEN, S., MUKHERIEE, I., WEI, E., ZHANG, WEI, Y., Z. Characterization of Poly(2-hydroxyethyl methacrylate-silica) Hybrid Materials with Different Silica Contents. **Polymer**: 48, 3982-3989, may. 2007.
30. GUO, L. DING, M. Dynamic Coating Ion-exchange Chromatography of Cations on an Octadecyl-bonded Silica Stationary Phase. **Journal of Chromatography A**: 946, p. 169–175, 2002.
31. TONHI, E., COLLINS, K.E., COLLINS, C. H. High-performance Liquid Chromatographic Stationary Phases Based on Polysiloxanes with Different Chain Lengths Thermally Immobilized on Silica Supports. **Journal of Chromatography A**: 1119. p.135-139, 2006.
32. COLLINS, E.K., BOTTOLI, C.B.C., VIGNA, C.R.M., BACHMANN, S., ALBERT, K., COLLINS, C. H. Self Immobilization of Poly(metyloctylsiloxane) on High-performance Liquid Chromatographic Silica. **Journal of Chromatography A**: 1029. p. 43-48, 2004.
33. HAUN, Y. C. **Desenvolvimento da Forma Farmacêutica Injetável a partir da  $\beta$ -lapachona e Ensaios Preliminares *in vivo***. 2006. 76p. Dissertação (mestrado em

Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2006. Orientador: Pedro José Rolim Neto.

34. LANDIN, M., FILHO, M.S.S.C, PACHECO, R.M. Compatibility of the Antitumoral  $\beta$ -lapachone with Different Solid Dosage Forms Excipients. **Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis**: 45. p. 590-598, 2007.

35. D'ALBUQUERQUE, I.L; MACIEL, M.C.N.; SCHULER, A.R.P; ARAÚJO, M.C.M; MACIEL, G.M; CAVALCANTI, M.A.B; MARTINS, D.G & LACERDA, A.L. *Apud* HAUN, Y. C. Preparação e Primeiras Observações Sobre as Atividades Antibióticas e Antineoplásicas das Naftoquinonas Homólogas Inferiores da Série da 2-hidroxi-3-(3-metil-2-burtenil)-1,4-naftoquinona (lapachol). **Revista do Instituto de Antibióticos, Recife- UFPE**. n.12 (1/2), p.31-40, dez, 1972.

36. GONÇALVES DE LIMA, O.; D'ALBUQUERQUE, I.L; PEREIRA, M.A. & MAIA, M.H.D. *Apud* HAUN, Y. C. Substâncias Antimicrobianas de Plantas Superiores – Comunicação XX: Atividade Antimicrobiana de Alguns Derivados do Lapachol em Comparação com a Xiloidona, nova Orto-naftoquinona Natural Isolada de Extratos do Cerne do “Pau d’Arco” Roxo, *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex. Griseb. **Revista do Instituto de Antibióticos, Recife- UFPE**. n.4 (1/2), p.3-17, dez, 1962.

37. SALAS, C., TAPIA, R.A., CUIDAD, K., ARMSTRONG, V., ORELLANA, M., KEMMERLING, U., FERREIRA, J., MAYA, J.D., MORELLO, A. Trypanossoma Cruzi: Activities of Lapachol and  $\alpha$ - and  $\beta$ -lapachone Derivates Against Epimastigote and Tripomastigote Forms. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**: 16. p. 668-674, 2008.

38. FERREIRA, V.F., JÚNIOR, E.N.S., SOUZA, M.C.B.V., PINTO, A.V., PINTO, M.C.F.R., GOULART, M.O.F., BARROS, F.W.A., PESSOA, C., LOTUFO, L.V.C., MONTENEGRO, R.C., MORAES, M.O. Synthesis and Potent Antitumor Activity of a New Arylamino Derivates of nor- $\beta$ -lapachone and nor- $\alpha$ -lapachone. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**:

39. PEDRIALI, C.A. **Síntese Química de Derivados Hidrossolúveis da Rutina: Determinação de suas Propriedades Físico-químicas e Avaliação de suas Atividades Antioxidantes.** 2005. 127p. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2005. Orientador: Bronislaw polakiewioz.
40. FILHO, A.W. **Potencial Analgésico de Flavonóides: Estudo do Mecanismo de Ação da Quercetina.** 2005. 95p. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC, 2005. Orientador: Márcia Maria de Souza.
41. TERNAUX, J.P., PORTALIER, P. Effect of Quercetine on Survival and Morfological Properties of Cultured Embryonic Rat Spinal Motoneurons. **Neuroscience Letters:** 332. p. 33-36, 2002.
42. ROSEGHINI. R. **Efeitos do Alcalóide Arborinina e do Flavonóide Rutina, Extraídos de Plantas Nativas da Bahia, Sobre Funcionalidade e Viabilidade de Células de Baço e Timo Murino *in vitro*.** 2005. 94p. Dissertação (mestrado em Imunologia) - Departamento de Imunologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, 2005. Orientador: Songeli Menezes Freire.
43. BABY, A.R., NISHIKAWA, D.O., ZAGUE, V., PINTO, C.A.S.O., VIEIRA, R.P., KENKO, T.M., VALESCO, M.V.R. Avaliação da Estabilidade de Máscaras Faciais Peel-off Contendo Rutina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.** V.28, n2. p.227-232, 2007.
44. **HPLC Solvent Selection.** <<http://www.chemistry.mtu.edu/~djchesne/classes/CH%205210%20Web%20Page/LCsolvents.pdf>>. Acesso em: 20. jun. 2009.
45. **Snyder Polarity Index, P'** <[http://www.yorku.ca/rmclaren/Chem3080/Notes/separations\\_B&W.pdf](http://www.yorku.ca/rmclaren/Chem3080/Notes/separations_B&W.pdf)>. Acesso em: 20. jun. 2009.

46. ANDRIC, F.L., TRIFKOVIC, J.D., TESIC, Z.L., MILOJKOVIC, D.M. An Approximate Linear Solvation Energy Relationships Model Based on Snyder's Selectivity Parameters. Chromatographic Behavior of Some 1-alkyl-4-arylpiperazines. **Chromatographia**: 68, p. 453-458, 2008.
47. SHERMA, J., FRIED, B. **Handbook of Thin-layer Chromatography**. 3ed. p. 59-61. Disponível em: <[http://books.google.com.br/books?id=DTK9hOdxwUYC&pg=PA59&lpg=PA59&dq=Snyder+Polarity+Index,+P%E2%80%99&source=bl&ots=d6h3rVOShl&sig=fPIaMNCdkvfIX7C7ZbTIMjRzMrA&hl=pt-BR&ei=cRNRSuTCGluaMdXF8fUP&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=6](http://books.google.com.br/books?id=DTK9hOdxwUYC&pg=PA59&lpg=PA59&dq=Snyder+Polarity+Index,+P%E2%80%99&source=bl&ots=d6h3rVOShl&sig=fPIaMNCdkvfIX7C7ZbTIMjRzMrA&hl=pt-BR&ei=cRNRSuTCGluaMdXF8fUP&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6)>. Acesso em: 20. jun. 2009.
48. MILLER, J.M. **Chromatography: Concepts and Contrasts**. 2 ed. p.106-107. Disponível em: <[http://books.google.com.br/books?id=22CUlZjAmScC&pg=PA106&lpg=PA106&dq=Snyder+Polarity+Index,+P%E2%80%99&source=bl&ots=XAW1CeAYu&sig=BAwqlfMU-lxAGCyYb1ts4WhJ0xo&hl=pt-BR&ei=cRNRSuTCGluaMdXF8fUP&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1](http://books.google.com.br/books?id=22CUlZjAmScC&pg=PA106&lpg=PA106&dq=Snyder+Polarity+Index,+P%E2%80%99&source=bl&ots=XAW1CeAYu&sig=BAwqlfMU-lxAGCyYb1ts4WhJ0xo&hl=pt-BR&ei=cRNRSuTCGluaMdXF8fUP&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1)>. Acesso em: 20. jun. 2009.
49. E. Pretsch, P. Bühlmann C. Affolter. **Structure Determination of Organic Compounds**. Springer-Verlag Berlin, 2000. .268-270, 304.
50. WILLIAMS, Q., BRADBURY, S. E. X-ray Diffraction and Infrared Spectroscopy of Monazite-structured CaSO<sub>4</sub> at High Pressures: Implications for Shocked Anhydrite. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**: 70. P.134-141, 2009.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)