

CONSTRUÇÃO DE UM DISPOSITIVO DE PRESSURIZAÇÃO A VÁCUO PARA A PREPARAÇÃO DE FASES ESTACIONÁRIAS MONOLÍTICAS VIA PROCESSO SOL-GEL**Sandro Pereira Ribeiro^a, Fernando Antonio Simas Vaz^a, Marcone Augusto Leal de Oliveira^{a*}, Thiago de Oliveira Mendes^b e José Paulo Rodrigues Furtado de Mendonça^b**^aDepartamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-330 Juiz de Fora – MG, Brasil^bDepartamento de Física, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-330 Juiz de Fora – MG, Brasil

Recebido em 26/06/2014; aceito em 08/08/2014; publicado na web em 22/09/2014

CONSTRUCTION OF A VACUUM PRESSURIZATION DEVICE FOR PREPARATION OF SOL-GEL MONOLITHIC STATIONARY PHASES. The filling of capillaries via the sol-gel process is growing. Therefore, this technical note focuses on disseminating knowledge acquired in the Group of Analytical Chemistry and Chemometrics over seven years working with monolithic stationary phase preparation in fused silica capillaries. We believe that the detailed information presented in this technical note concerning the construction of an alternative high pressurization device, used to fill capillary columns via the sol-gel process, which has promising potential for applications involving capillary electrochromatography and liquid chromatography in nano scale, may be enlightening and motivating for groups interested in developing research activities within this theme.

Keywords: high pressurization device; sol-gel chemistry; monolithic stationary phase; capillary electrochromatography.

INTRODUÇÃO

As novas técnicas analíticas destinadas a quantificações mais rápidas e eficientes de inúmeros tipos de compostos em matrizes complexas tornaram-se, na última década, um grande atrativo na área de separação. Dentre as principais técnicas de separação que têm despertado grande interesse no meio acadêmico, a Eletrocromatografia Capilar (ECC) surgiu com o desejo de equacionar positivamente as características relevantes da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e da Eletroforese Capilar (EC) em um formato único.¹ O princípio básico da ECC está na aplicação de um potencial elétrico em uma coluna capilar de sílica fundida externamente revestida, contendo em seu interior uma fase estacionária (FE) e uma fase móvel (FM) adequados. A formação de um campo elétrico contínuo ao longo da coluna permite que a FM seja bombeada por eletrosmose.¹⁻⁴ Esta associação entre FE e o fluxo eletrosmótico possibilita, por exemplo, estabelecer condições de contorno para alguns efeitos indesejáveis tanto da CLAE (como a necessidade de altas pressões para bombeamento da FM), quanto da EC (dificuldade na separação de compostos eletricamente neutros).⁵⁻⁹ Deve-se ressaltar que os volumes gastos de reagentes, padrões e amostra são mínimos, característica herdada da EC, por se tratar da mesma instrumentação utilizada.

As aplicações em ECC englobam análises de vários tipos de compostos, desde os iônicos aos moleculares e dos polares aos apolares. Como exemplos, é possível citar desde moléculas simples, passando por aminoácidos e peptídeos,⁵ proteínas,⁶ antraquinonas,⁷ hidrocarbonetos policíclicos aromáticos⁸ e chegando a determinações mais complexas como a determinação de racematos.⁹ A grande disponibilidade e variedade dos possíveis reagentes utilizados, a rapidez nas análises e o custo relativamente baixo tornam a ECC uma alternativa viável e bastante interessante no contexto analítico.

Um dos possíveis tipos de FE é a fase estacionária monolítica (FEM), que consiste em um material polimerizado *in situ*, via processo sol-gel, contendo macro e mesoporos, aderido à parede interna do capilar e possivelmente funcionalizado. Contudo, um dos desafios

no processo de preparação das colunas reside justamente na etapa de preenchimento com a FE. A literatura dedicada ao assunto apresenta-se escassa de informações a respeito do detalhamento de dispositivos necessários na etapa de introdução dos reagentes no interior do capilar para posterior polimerização.

Logo, a motivação do presente trabalho advém do fato de que atualmente poucos grupos de pesquisa desenvolvem esta tecnologia no Brasil, apesar de que, no exterior, o preenchimento de capilares via processo sol-gel está em franco crescimento.¹⁰ Dentro deste contexto, a presente nota técnica tem como foco socializar conhecimentos adquiridos no Grupo de Química Analítica e Quimiometria (GQAQ) ao longo de sete anos de trabalho com a preparação de FEM em capilares de sílica fundida via processo sol-gel. Acreditamos que as informações apresentadas neste trabalho a respeito do dispositivo de alta pressurização (DAP), imprescindível para o preenchimento de colunas capilares de maneira eficiente e reprodutível, poderão ser esclarecedoras e motivadoras para os grupos interessados em desenvolver atividades de pesquisa com o tema no Brasil.

EXPERIMENTAL**Reagentes e solventes**

Os reagentes e solventes utilizados no preparo de eletrólito condutor e na preparação das FEM foram os seguintes: metacriloxipropiltrimetoxissilano (MPTMS-98%) – Acros Organics (New Jersey, EUA); óxido de bis(2,4,6-trimetilbenzoi)-fenilfosfina (Irgacure 819) – Ciba (São Paulo, Brasil); tolueno (alto grau de pureza) – Beckman (Fullerton, EUA); etanol e metanol – Quimex (Tubarão, Brasil); ácido clorídrico, acetato de amônio, tiouréia e acetonitrila (ACN) (PA) – Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Foram utilizados os seguintes padrões: naftaleno e acenafteno (99,0%) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA); antraceno (99,0%) e fenantreno (97,0%) (Fluka, Buchs, Suíça) e fluoreno (98,0%) (Aldrich, Steinheim, Alemanha); As soluções foram preparadas com água purificada por sistema de osmose reversa (Q842 da Quimis, Diadema, Brasil).

*e-mail: marcone.oliveira@ufjf.edu.br

Seringas e conectores

Seringas Gastight de 25 μL (1702 RNR) e 50 μL (1705 TLL) foram obtidas da Hamilton Company, Reno, Estados Unidos. As seringas são acopladas aos capilares pela agulha, com o auxílio de conexões PEEK (polímero PEEKTM, marca registrada de Victrex plc.): uniões True-ZDV para micro luvas (P-720); adaptadores do tipo Luer-to-MicroTight (P-662); luvas tubulares do tipo Microtight green Peek (F-185X); luvas tubulares tipo Microtight black Peek (F-186X); conectores padrão para luvas tubulares do tipo Microtight (F-125x) e conectores padrão para tubos de 360 μm de diâmetro, Blue PEEK (F-124Sx).

Capilares

Capilares de sílica fundida com dimensões de 100 μm d.i. e 375 μm d.e. revestidos com poliacrilato foram regularmente obtidos da Microtube (Araraquara, SP). Capilares de sílica fundida com dimensões de 100 μm d.i e 375 μm d.e. revestidos com teflon e com TSU foram importados da Polymicro Technologies (Phoenix, EUA).

Preparo de colunas monolíticas via processo sol-gel

A preparação das FEM consiste, basicamente, em um pré-tratamento do capilar, para silanizar a sua superfície utilizada como suporte; no preparo do sol, que é uma solução contendo precursor polimérico e um agente porogênico; no preenchimento parcial do capilar com esse sol; na polimerização fotoiniciada *in situ* em uma câmara UV via processo sol-gel, onde o sol ganha viscosidade sendo convertido em um gel¹¹⁻¹³ e, finalmente, em um pós-tratamento em que o agente porogênico e resíduos da polimerização são removidos. A descrição detalhada deste processo pode ser encontrada em trabalhos anteriores.^{14,15}

A inserção do sol no capilar é o momento mais crítico de todo o processo de produção das FEM. A estrutura monolítica não convém conter falhas, devendo ser homogênea a fim de evitar a formação de bolhas de ar durante a corrida eletrocromatográfica, o que interfere na formação de corrente elétrica.¹⁶ Além disso, o comprimento preenchido deve ser bem definido (8 cm de capilar). O segmento seguinte, isento deste polímero, é a região de detecção (geralmente espectrofotométrica na região do UV). No caso do revestimento externo do capilar ser opaco à radiação UV utilizada para as análises, uma janela de detecção deve ser feita através da remoção de aproximadamente 0,5 cm do material protetor. Essa produção da janela confere certa fragilidade às colunas, sendo aconselhável o uso de capilares com revestimentos transparentes à radiação UV (entre 190 e 400 nm). Essa alternativa garante flexibilidade e resistência mecânica à coluna e permite a leitura do detector diretamente no capilar, sem a necessidade de sua remoção.

Em seguida, são feitas análises de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) no equipamento de EC para verificar a formação da FEM no interior da coluna.

Instrumentação

Foi utilizado um equipamento de EC modelo Agilent CE (Palo Alto, EUA), equipado com fonte de alta tensão (± 30 kV); detector por arranjo de diodos (DAD); controle de temperatura no interior do cartucho por passagem de ar forçado; sistema de pressurização externa (este sistema emprega gás nitrogênio ultrapuro fornecido pela White Martins, Juiz de Fora, MG), que permite a aplicação de pressões de 2 a 12 bar nos capilares durante as corridas ou pré-tratamentos; e programa para controle, aquisição e tratamento de dados (HP ChemStation, rev A.06.01).

A polimerização fotoiniciada foi realizada em uma câmara *lab-made*, que consiste em uma caixa feita em madeira medium density fiberboard (MDF), equipada com seis lâmpadas fluorescentes de 46 cm de comprimento e 15 W cada (90 W de potência total) conectadas a três reatores elétricos; paredes internas espelhadas; e temporizador digital com a função de controlar a chave liga-desliga.¹³

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dispositivos de alta pressurização

Os instrumentos de injeção, denominados no GQAQ como dispositivos de alta pressurização (DAP), proporcionam a introdução do sol, assim como os processos de pré-tratamento da superfície interna da coluna capilar e de pós-tratamento da FEM recém-formada. Existem vários modelos disponíveis comercialmente, os quais podem ser desde dispositivos manuais a bombas de infusão digitais mais sofisticadas. Em geral, as bombas apresentam custo de compra elevado, necessitam de quantidades expressivas de reagentes e solventes e demanda de muitos cuidados para o preenchimento de forma controlada do monólito em apenas uma seção do tubo capilar. Por outro lado, os dispositivos manuais apresentam baixo custo, utilizam pequenos volumes de líquidos (soluções, solventes ou sol) e possibilitam a injeção de forma controlada e precisa em um dado comprimento de coluna capilar.¹⁷

O primeiro dispositivo de alta pressurização (DAP I) criado no GQAQ é constituído por um suporte rígido de latão, no qual se acopla uma seringa preenchida com o líquido a ser injetado no capilar, conforme descrito no trabalho publicado por Vaz *et al.*¹⁵ O DAP I foi projetado para seringas grandes (acima de 5 mL). Com isso, mesmo os pequenos avanços promovem grandes liberações de volume para o capilar, dificultando o controle da injeção. Com o objetivo de miniaturizar o volume liberado, um segundo modelo do dispositivo, ou seja, DAP II, foi projetado e construído conforme mostra a Figura 1. Este modelo foi construído com um material mais leve e com duas entradas para seringas ao invés de uma, o que possibilita o condicionamento de até dois capilares simultaneamente, contribuindo para um aumento da frequência de preparo das colunas. Também foi modificada a forma como o êmbolo é pressionado. O parafuso no centro do dispositivo possui liberdade para girar, embora não avance ou recue. Uma plataforma móvel, apoiada nos trilhos paralelos, está associada à rosca do parafuso, permitindo o seu avanço ou recuo na direção do percurso do êmbolo à medida que o parafuso é girado.¹⁷

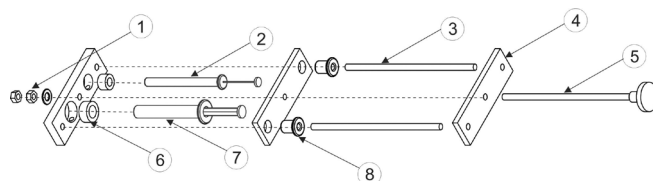


Figura 1. DAP II. Esquema técnico para montagem do DAP II. 1) porcas e arruela, 2) seringa, 3) guia, 4) base, 5) barra rosçada, 6) bucha nylon, 7) seringa, 8) bucha da guia

Para a construção do DAP II foram utilizadas ligas metálicas de aço carbono. Todos os componentes estruturais foram minuciosamente planejados e posteriormente usinados na oficina mecânica do Departamento de Física na Universidade Federal de Juiz de Fora, MG.

Embora as FEM produzidas no GQAQ com os dois modelos de DAP permitam resultados satisfatórios,¹⁵⁻¹⁷ existe um detalhe relacionado ao preenchimento que deve ser discutido. Em primeiro

lugar, a deteriorização dos conectores e da seringa (como acúmulo de resíduos e entupimentos) é naturalmente possível, devido ao contato com o sol, que, por ser fotossensível, pode polimerizar-se precocemente em contato com a luz ambiente. Como as superfícies destes conectores são de difícil acesso, sua limpeza é igualmente difícil, podendo ocasionar danos irreversíveis a estes, elevando o custo e diminuindo a eficiência do processo.

Componentes auxiliares

Com o objetivo de eliminar o contato direto do sol com os conectores e seringas, foi realizada uma adaptação no DAP II, adicionando-se componentes auxiliares que permitem o movimento controlado do êmbolo nos dois sentidos possíveis. Estes componentes foram modelados cuidadosamente em latão para que se obtenha um acoplamento adequado de sua estrutura no DAP II, na seringa e no êmbolo. Com o uso de parafusos e porcas, é garantido que tal acoplamento seja firme, possibilitando um novo modo de inserção diferenciado das soluções para o interior do capilar.

Funcionamento do DAP II modificado

Com esse sistema, o DAP II pode funcionar no sentido contrário, permitindo a injeção a vácuo. Assim, a injeção do sol pode ser feita por sucção do líquido contido em seu recipiente diretamente para o tubo capilar (Figura 2).

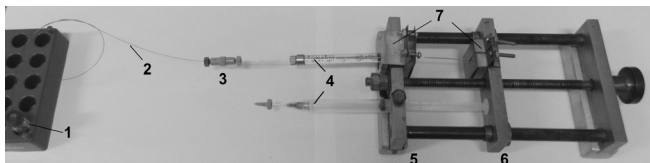


Figura 2. DAP II modificado e o sentido do seu funcionamento para inserção a vácuo. 1) reservatório de sol, 2) capilar, 3) conectores para o capilar e a agulha, 4) seringas, 5) plataforma fixa, 6) plataforma móvel, 7) componentes auxiliares para injeção a vácuo

O DAP II a vácuo funciona da seguinte forma: 1) uma extremidade do capilar é conectada hermeticamente à agulha da seringa, por meio dos conectores apropriados; 2) a outra extremidade é imersa no sol, contido em um recipiente independente do sistema; 3) a seringa é afixada na plataforma fixa e 4) o seu êmbolo é preso na plataforma móvel, por meio dos componentes auxiliares. Inicialmente, o êmbolo deve estar totalmente pressionado e as plataformas 3 e 4 próximas. A partir da rotação do parafuso no sentido horário, a plataforma 4 se afasta da plataforma 3, puxando o êmbolo consigo. Este movimento cria um vácuo no interior do capilar, permitindo a sucção do líquido em 2. O parafuso é girado até que o líquido alcance o comprimento de capilar desejado.

Avaliação das FEM preparadas com o DAP II modificado

Quatro FEM foram preparadas com o DAP II modificado, sendo uma em cada dia, com o mesmo sol. Uma vez finalizado esse processo, é feita a avaliação do desempenho, a partir da análise de HPA. As FEM mostraram-se com estrutura visivelmente homogênea e proporcionaram perfis de separação semelhantes entre si (Figura 3) e aos obtidos nos trabalhos anteriores no grupo.

Assim, foi possível constatar que as quatro FEM foram devidamente formadas, indicando que não há problemas durante o processo de preparação, incluindo a etapa crucial de preenchimento com o DAP II modificado.

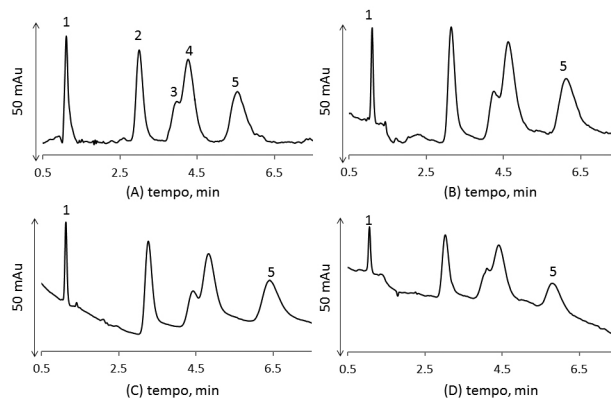


Figura 3. Eletrocromatogramas obtidos em colunas produzidas em réplicas (A a D) com o DAP II modificado, em capilar TSU. Ordem de eluição: 1) tiouréia, 2) naftaleno, 3) acenafteno, 4) fluoreno e 5) fenantreno, diluídos em metanol a 1,0 mmol L⁻¹. Fase móvel: NH₄Ac 16,7 mmol L⁻¹ (60%) e acetonitrila (40%); voltagem: -20 kV; temperatura: 20 °C; injeção: -25 mbar por 5 s; detecção: 220 nm

CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível mostrar os primeiros dispositivos construídos no GQAQ, assim como a melhoria realizada, com a qual foi possível obter introdução de sol a vácuo. Este dispositivo é capaz de evitar falhas na estrutura monolítica e danos nos instrumentos que auxiliam a inserção da FEM no capilar. O uso de FEM com inserção a vácuo, além de permitir baixo consumo de solventes e reagentes, diminui o gasto de produção e garante a homogeneidade do material polimérico inserido.

Logo, foi mostrado o perfil de separação de HPAs com o uso de FEM inseridas com o DAP II a vácuo. Tal perfil se mostrou semelhante aos conseguidos de maneira convencional, indicando que este modo de injeção é uma excelente alternativa capaz de contribuir para difusão e expansão da ECC. Por fim, este trabalho pode ser uma contribuição importante para pesquisadores interessados em desenvolver trabalhos empregando ECC.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – PNPd 23038.007000/2011-70), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq: 475055/2011-0 and 301689/2011-3) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG - CEX-PPM 00398-13) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Hilder, E. F.; Svec, F.; Fréchet, J. M. J.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1044*, 3.
- Li, W.; Fries, D. P.; Malik, A.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1044*, 23.
- Svec, F.; Peters, E. C.; Sykora, D.; Fréchet, J. M. J.; *J. Chromatogr. A* **2000**, *887*, 3.
- Faria, A. M.; Bottoli, C. B. G.; Jardim, I. C. S. F.; Collins, C. H.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 300.
- Shediac, R.; Ngola, S. M.; Throckmorton, D. J.; Anex, D. S.; Shepodd, T. J.; Singh, A. K.; *J. Chromatogr. A* **2001**, *925*, 251.
- Bandilla, D.; Skinner, D. C.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1004*, 167.
- Haixia, L.; Wang, J.; Wang, X.; Lin, X.; Wu, X.; Xie, Z.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *43*, 352.
- Kato, M.; Sakai, K.; Toyooka, T.; Dulay, M. T.; *J. Chromatogr. A* **2002**, *961*, 45.

9. Lämmerhofer, M.; Svec, F.; Fréchet, J. M. J.; *Trends Anal. Chem.* **2000**, *19*, 676.
10. Jiang, T.; Jiskra, J.; Claessens, H. A.; Cramers, C. A.; *J. Chromatogr. A* **2001**, *923*, 215.
11. Brinker, C. J.; Scherer, G. W.; *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, Academic Press: San Diego, 1990. p. 912.
12. Bergna, H. E.; Roberts, W. O.; *Colloidal Silica: Fundamentals and applications*, CRC Press: Boca Raton, 2006.
13. Vaz, F.; Queiroz, M.; Ribeiro, S.; Oliveira, M. A. L.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 2156.
14. Vaz, F. A.; Castro, P.; Molina, C.; Oliveira, M. A. L.; *Talanta* **2008**, *76*, 226.
15. Vaz, F.; Moutinho, A.; Mendonça, J.; Oliveira, M. A. L.; *Microchem. J.* **2012**, *100*, 21.
16. Jiang, T.; Jiskra, J.; Claessens, H. A.; Cramers, C. A.; *J. Chromatogr. A* **2001**, *923*, 215.
17. Vaz, F. A. S.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil, 2007.