

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Este exemplar corresponde a redação final da Tese
defendida por Ana Adelina Winkler Hechenleitner e
Aprovada pela Comissão Julgadora

26 de Novembro de 1987
Fernando Galembeck

OBTENÇÃO E USO DE GRADIENTES DE DENSIDADE:

FRACIONAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
LATEXES POLIMÉRICOS

ANA ADELINA WINKLER HECHENLEITNER

TESE DE DOUTORAMENTO

ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO GALEMBECK

CAMPINAS

1987

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A Edgardo e Gustavo

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Fernando Galembeck pela ajuda e ótima orientação no desenvolvimento da tese.
- Aos Profs. Drs. Jaime Baeza e Juanita Freer pela ajuda e apoio na minha formação científica.
- Ao Prof. Dr. Roberto Rittner pela ajuda na discussão dos espectros NMR.
- A Manuela e Célia pelos espectros infravermelhos.
- A Paula pelos espectros NMR.
- A Eliana e Everaldo pelos desenhos.
- A CAPES, CNPq e UNICAMP pelas bolsas concedidas.
- Aos colegas e amigos do Instituto de Química por contribuições valiosas no trabalho e pelos bons momentos que passamos juntos.

RESUMO

As técnicas de osmocentrifugação e ultrafiltração centrífuga foram aplicadas à obtenção de gradientes de densidade, autogerados, de soluções macromoleculares. Por ultrafiltração centrífuga são gerados gradientes mais acentuados em tempos curtos do que em tempos mais longos. Variando-se as condições de tempo e velocidade de centrifugação, as duas técnicas permitem variar a faixa de densidade e a curvatura dos gradientes obtidos.

Por centrifugação em gradiente de densidade foi realizado o fracionamento e caracterização de material particulado existente em tintas e adesivos (produtos comerciais), formulados à base de látexes poliméricos. Os resultados obtidos são os seguintes:

- Foram separadas frações de poli(acetato de vinila) (PVA) de taticidade e composição (em relação a plastificantes e/ou impurezas) diferenciada; essas características dos látexes foram determinadas por $^1\text{H-NMR}$.

- Foram separadas frações de látex acrílico (polímero formado por estireno e um ou mais monômeros acrílicos) de composição diferenciada. O teor de estireno diminui com o aumento na densidade das partículas do látex; a fração de menor densidade apresenta maior teor de carboxilatos de íon metálico. Essas variações na composição do látex foram determinadas por espectrofotometria no infravermelho.

- Foram separadas a fração polimérica e a fração mineral de duas tintas e dois adesivos. Foi possível identificar os componentes da fração mineral por espectrofotometria no infravermelho. Estas experiências permitiram também identificar PVA associado a partículas de carbonato de cálcio, talvez como estabilizante.

A obtenção de membranas sintéticas de acetato de celulose adequadas para uso em solventes orgânicos foi investigada, seja através de simples transferência a solventes que não dissolvem o acetato, seja através da modificação química do acetato. Por tratamento das membranas com uréia-formaldeído conseguiu-se a sua insolubilização em solventes comuns de acetato de celulose.

Membranas obtidas por transferência de água a metanol e tolueno foram utilizadas em experiências de concentração de soluções de PVA e poliestireno, por ultrafiltração centrífuga. Os resultados obtidos seguem o mesmo padrão de comportamento obtido anteriormente com soluções aquosas, e mostram que a ultrafiltração centrífuga é uma técnica adequada à concentração de solutos poliméricos, também em meio não aquoso.

ABSTRACT

Osmocentrifugation and centrifugal ultrafiltration were applied to the obtention of selfgenerated gradients of macromolecular solutes. Centrifugal ultrafiltration provides greater gradients in shorter times than in longer times. The range and shape of the density gradients can be varied, by using different centrifugation times and rotor speeds.

Fractionation and characterization of particulate matter found in commercial paints and adhesives, formulated using polymer latexes, were achieved by centrifugation in density gradients. The results obtained are:

- Polyvinylacetate (PVA) latex fractions with different tacticity and composition (related to plasticizers and/or impurities) were obtained. Characterization of latex fractions was done by $^1\text{H NMR}$ spectroscopy.

- Acrylic latex (copolymer or terpolymer of styrene and one or more acrylic monomers) fractions with different composition were obtained. The proportion of styrene in the latex decreases with the increase of latex fraction density; the fraction of lower density shows the greater amount of metal carboxylate. These informations were obtained by infrared spectrophotometry of latex fractions.

- The polymeric and mineral fractions of two paints and two adhesives were also separated. The components of the mineral fractions were identified by infrared spectrophotometry. These experiments allowed the identification of PVA associated to calcium carbonate, perhaps as a stabilizer.

The obtention of synthetic membranes of cellulose acetate adequate to use in organic solvents was investigated, through transfer to liquids that are no solvents of cellulose acetate or

through chemical modification of the acetate. By treating the membranes with urea formaldehyde they were rendered insoluble in common solvents of cellulose acetate, but their mechanical properties were unsuitable to further use.

Membranes transferred from water to methanol and toluene were utilized in centrifugal ultrafiltration of polystyrene and PVA solutions. The results obtained follow the same pattern of behavior obtained previously in aqueous solutions, and show that centrifugal ultrafiltration is an appropriate technique to concentrate polymeric solutes in non-aqueous systems.

INDICE

Resumo

Abstract

I. Introdução	1
I.1. Sedimentação em gradiente de densidade	1
I.1.1. Materiais formadores de gradientes de densidade	4
I.1.2. Obtenção de gradientes de densidade	6
I.1.2.1. Misturadores	6
I.1.2.2. Gradientes autogerados	7
I.1.3. Determinação da densidade	10
I.1.4. Aplicações da sedimentação em gradientes de densidade	11
I.1.4.1. Separação e fracionamento	11
I.1.4.2. Determinação de coeficiente de sedimentação	15
I.1.4.3. Determinação de massa molar	17
I.2. Dispersões coloidais	21
I.2.1. Estabilidade de colóides	21
I.2.2. Látexes poliméricos	27
I.2.3. Fracionamento de partículas	32
I.3. Membranas sintéticas	34
I.4. Osmosedimentação	39
I.5. Ultrafiltração	42
Objetivos desta tese	47
II. Centrifugação em gradiente de densidade	48
II.1. Parte experimental e resultados	48
II.1.1. Obtenção de gradientes de densidade por osmocontrifugação e ultrafiltração centrífuga	49

II.1.2. Verificação de atingimento de equilíbrio isopícnico	56
II.1.2.1. Em célula de osmocentrifugação	56
II.1.2.2. Em tubo de centrifugação	59
II.1.3. Fracionamento de partículas	64
II.1.4. Separação de partículas	75
II.1.4.1. Látexes de PVA e poliestireno	75
II.1.4.2. Adesivos de PVA e CaCO	77
II.1.4.3. Tinta branca a base de PVA	83
II.1.4.4. Tinta branca acrílica	87
II.2. Discussão	97
II.2.1. Gradientes de densidade gerados por osmocentrifugação e ultrafiltração centrífuga	97
II.2.2. Verificação de atingimento de equilíbrio isopícnico	101
II.2.3. Fracionamento de partículas	102
II.2.4. Separação de partículas	103
II.3. Conclusões	104
III. Membranas para uso em meios não-aquosos	105
III.1. Parte experimental e resultados	105
III.2. Discussão	109
IV. Concentração de soluções de polímeros sintéticos por ultrafiltração centrífuga	111
IV.1. Parte experimental e resultados	111
IV.2. Discussão	120
Referências	121

I. INTRODUÇÃO

I.1. SEDIMENTAÇÃO EM GRADIENTE DE DENSIDADE

Quando uma dispersão é submetida a um campo inercial, as partículas sofrem um dos tres efeitos seguintes:

- 1) se elas são mais densas que o meio, afastam-se do eixo de rotação (sedimentação);
- 2) se são menos densas que o meio, deslocam-se em direção do eixo de rotação (flutuação);
- 3) se elas tem densidade igual à do meio, permanecem estacionárias em relação ao eixo de rotação (equilíbrio isopícnico).

A velocidade de sedimentação (v) de uma partícula esférica num campo centrífugo é descrita pela equação:

$$v = d^2(\rho_p - \rho_m) w^2 r / 18\eta \quad [1]$$

onde d : diâmetro da partícula

ρ_p : densidade da partícula

ρ_m : densidade do meio

η : viscosidade do meio

w : velocidade angular

r : distância do eixo de rotação a um ponto qualquer na dispersão.

Ou seja, a velocidade de sedimentação da partícula é função crescente do seu diâmetro, da diferença entre ρ_p e ρ_m e do campo inercial. Diminui com o aumento da viscosidade do meio.

Estes efeitos são aproveitados para separação e fracionamento de partículas. Os tres procedimentos mais utilizados são:

Centrifugação diferencial (Figura 1 a). A amostra é suspensa num meio homogêneo de densidade menor que a densidade das partículas. A separação ocorre durante a centrifugação devido à diferente velocidade de sedimentação dos componentes. Em tempo longo de centrifugação, todas as partículas sedimentam até o fundo do tubo.

A resolução do método é satisfatória somente nos casos em que as características das partículas são suficientemente diferentes entre si (diferença mínima em massa molar de uma ordem de magnitude).

Centrifugação zonal (Figura 1 b). A amostra é colocada sobre um meio no qual se formou previamente um gradiente contínuo de densidade (tal que a densidade das partículas é maior que a densidade do meio em todos os pontos). Durante a centrifugação as partículas sedimentam com velocidades diferentes formando zonas que são estabilizadas pelo meio, de maneira que permite uma separação com melhor resolução que a centrifugação diferencial. Neste caso também em tempos longos a amostra se acumula totalmente no fundo do tubo.

Centrifugação isopícnica (Figura 1 c). Neste caso a separação ocorre unicamente devido à diferença de densidade das partículas. A sedimentação das partículas a ser separadas ocorre num gradiente contínuo de densidade (que compreende as densidades das partículas). Cada partícula sedimenta até uma posição de equilíbrio no gradiente onde a densidade do meio é igual à densidade dela (posição isopícnica, $\rho_p - \rho_m = 0$).

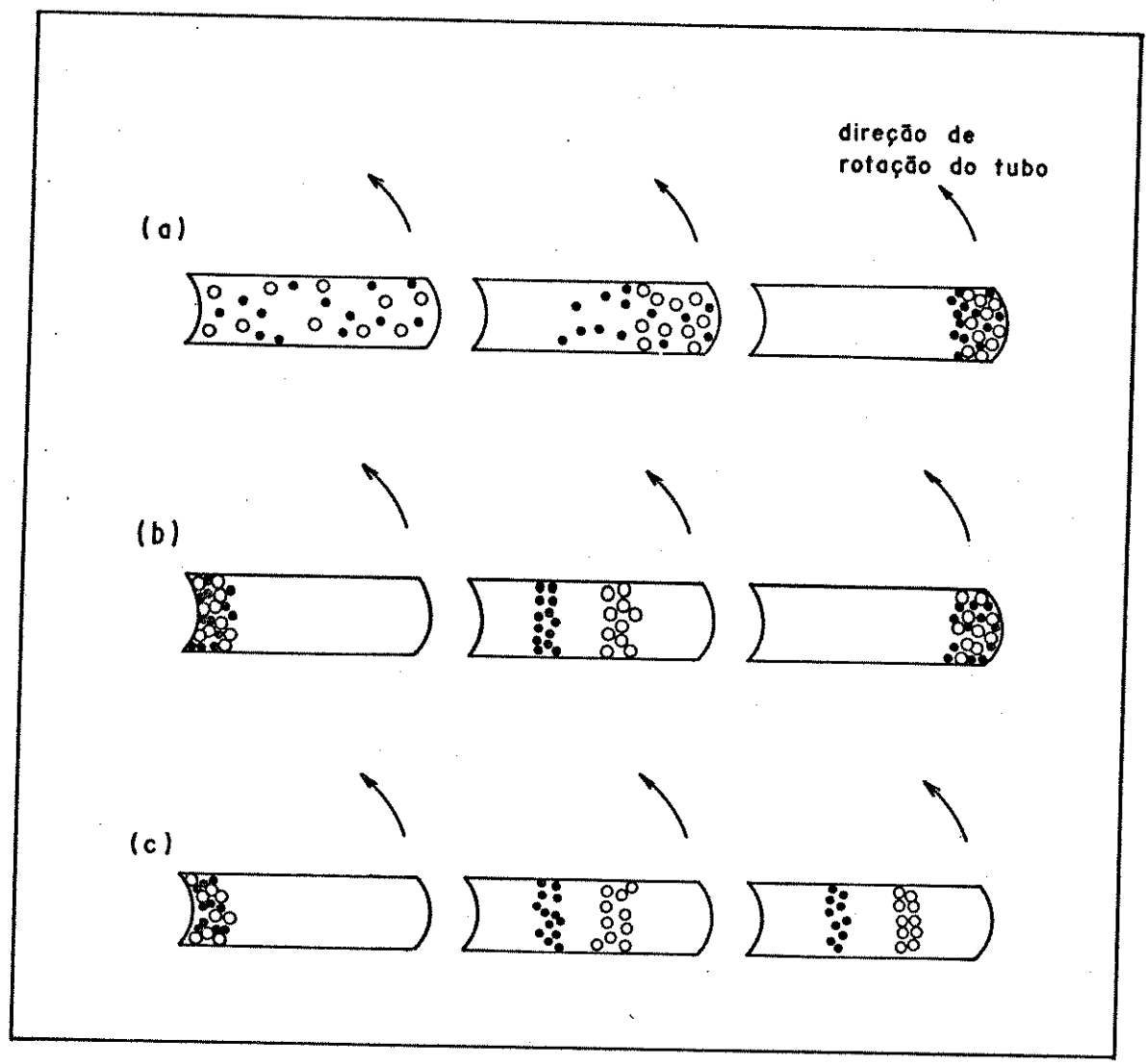


Figura 1. Separação de materiais macromoleculares ou de partículas por: (a) centrifugação diferencial, (b) centrifugação zonal e (c) centrifugação isopícnica.

I.1.1. Materiais formadores de gradientes de densidade.

Gradientes de densidade são formados devido a variação da concentração de solutos, que podem ser desde compostos de baixa massa molar até partículas coloidais.

Um soluto ideal para formação de gradiente de densidade deve apresentar as seguintes características: ser muito solúvel em água ou no solvente utilizado, ter densidade alta, viscosidade baixa, pressão osmótica desprezível, ser fisiológica e quimicamente inativo, transparente na região UV-Visível e de baixo custo. Realmente não existe um material com todas estas características, mas algumas combinações são possíveis. Na Tabela I (1) são apresentados dados dos materiais mais comumente usados na formação de gradientes de densidade.

Tabela I. Propriedades físicas de alguns materiais formadores de gradiente de densidade.

Soluções estoque					
Material	Conc.	Densidade		Viscosidade	
		g/cm ³	(°C)	(centipoise)	
CsCl	60%(w/w)	1,7900	20	1,12 (20°C)	
D ₂ O	100%	1,105	20	--	
Ficoll	46,5%(w/w)	1,1629	4	1020	(4°C)
Glicerol	100%	1,2609	20	1490	(20°C)
Ludox AM	30.1%(w/w)	1,206		16	(25°C)
Metrizamida	85%(w/v)	1,466	5	246	(5°C)
Sorbitol	60%(w/w)	1,2584	4	102,9	(4°C)
Sacarose	65%(w/w)	1,3260	4	56,5	(20°C)
Percoll	23%(w/w)	1,13	-	10	(20°C)

Sacarose. A sacarose foi o material pioneiro na obtenção de gradientes de densidade (2) e continua sendo muito utilizada devido ao seu baixo custo, alta solubilidade e transparência. Porém não é totalmente inativa fisiologicamente, o principal problema é sua elevada pressão osmótica, que provoca alterações irreversíveis em certas células e membranas.

Sorbitol. Sorbitol é em muitos casos preferido ao invés de sacarose (3) pois penetra nas membranas celulares mais lentamente.

Ficoll. É um copolímero sintético de sacarose e epícloridrina ($M=40000$), solúvel em água até 50%(w/w), mas soluções de concentração acima de 30% tem viscosidade muito elevada. Ficoll não penetra nas membranas biológicas, as soluções tem pressão osmótica muito baixa. É geralmente escolhido para separação de linfócitos (4).

Percoll. Um dos maiores avanços em relação a materiais para gradientes de densidade na última década foi a invenção do Percoll (5). É uma dispersão de sílica coloidal, cujas partículas estão cobertas com polivinilpirrolidona (PVP). Esta camada de PVP minimiza sua toxidez frente a certas células e organelas. Percoll é de baixa viscosidade, baixa pressão osmótica, sua massa molar é de $6,5 \cdot 10^6$, é estável em pH baixo. Suas desvantagens são o seu custo elevado e o fato de absorver na região do UV.

Cloreto de cesio. Em meio aquoso as maiores densidades podem ser obtidas com sais. Gradientes de CsCl tem sido muito usados em fracionamento de DNA (6). Uma limitação no seu uso é a sua elevada pressão osmótica, o que provoca desidratação de biopartículas

tornando-as mais densas, e podendo também sofrer mudanças irreversíveis. Sais de cesio são de custo elevado e não podem ser usados em rotores de alumínio, por problemas de corrosão.

D₂O. Água deuterada é na verdade um material ideal para formação de gradientes de densidade, embora tenha alto custo e baixa densidade. O meio ao longo do gradiente é invariante em relação a praticamente todos os parâmetros exceto a densidade. Porém há troca da água de hidratação das partículas por D₂O o que aumenta a densidade delas. Em mitocôndrias e lisosomas esta troca ocorre em proporções diferentes e assim estas partículas apresentam densidades diferentes em gradiente água/água pesada, enquanto que em gradientes de sacarose mitocôndrias e lisosomas se superpõem (7).

1.1.2. Obtenção de gradientes de densidade.

1.1.2.1. Misturadores

Um dispositivo muito simples (Figura 2) consta de dois cilindros, um contendo solução de partida de maior densidade (cilindro B) e o outro solução final de menor densidade (cilindro A). Os dois cilindros se comunicam através das bases. No cilindro B é mantida uma boa agitação e ele é provido de uma saída que comunica com o tubo onde vai ser recolhido o gradiente de densidade (tubo D), passando por uma bomba peristáltica. A medida que a solução é retirada do cilindro B, entra nele solução do cilindro A tal que a composição em B e no tubo C muda continuamente. Se os dois cilindros são iguais, o gradiente gerado é linear. Se os diâmetros dos cilindros são diferentes e/ou se as velocidades de transferência dos líquidos são diferentes resultam gradientes de diferentes formatos (1).

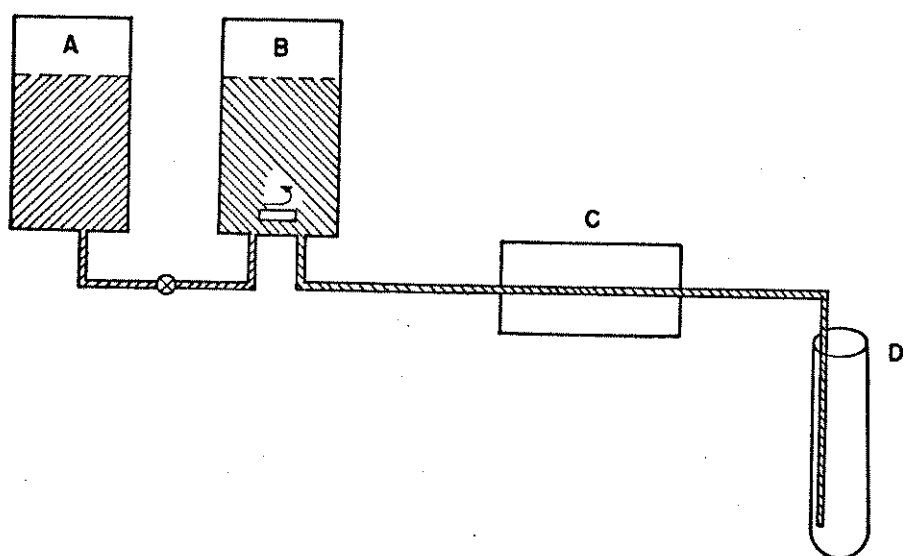


Figura 2. Esquema de um gerador de gradiente de densidade. A e B; reservatórios de solução final e de partida respectivamente; C; bomba peristáltica; D; tubo onde se forma o gradiente.

1.1.2.2. Gradientes autogerados.

O método convencional consiste em colocar na célula da ultracentrífuga analítica uma solução de formador de gradiente e solvente adequados. A concentração da solução é escolhida de forma que sua densidade e a do material a ser analisado sejam próximas. Nesta solução é colocada uma pequena quantidade da amostra e logo a célula é centrifugada numa velocidade entre 30000 a 50000 rpm. Devido à sedimentação e difusão das moléculas em solução se cria na célula um gradiente de concentração e com ele um gradiente de densidade. Em tempos de 30 a 80 horas é alcançado o equilíbrio, que depende das condições empregadas. O gradiente e distribuição da amostra são registrados pelo sistema óptico (Schlieren, interferência ou absorção) da ultracentrífuga. Da posição das bandas é determinada a densidade e da forma das bandas se obtém informação qualitativa sobre distribuição da composição e massa molar de espécies poliméricas heterogêneas.

Por serem experimentos demorados, a amostra pode sofrer mudanças no grau de solvatação e com isso mudar sua densidade. De outro lado, a técnica só é utilizada (principalmente na indústria) quando estritamente necessário.

- Para látexes poliméricos Lange (8) desenvolveu um procedimento de ultracentrifugação muito rápido. Numa célula bisetorial (12 mm) (Figura 3 B) é colocada água pesada contendo a amostra de partículas poliméricas e por cima desta coluna líquida é adicionada água. O gradiente de densidade se forma rapidamente por difusão na interface H_2O/D_2O e as partículas atingem suas posições isopícnicas em tempos que variam entre 10 a 30 minutos. O gradiente de densidade é determinado da foto Schlieren e a posição das bandas de um registro de absorbância ao longo da célula. A desvantagem deste gradiente de água/água pesada é sua pequena faixa de densidade (1,0 a 1,1 g/cm^3), mas adicionando metanol ou glicerina é possível ampliar esta faixa para 0,85 a 1,25 g/cm^3 .

- Outro tipo de experimento rápido usando gradiente de densidade dinâmico foi descrito por Maechtle (9). Numa célula bisetorial simples de 3 mm (Figura 3 A) são colocados 0.2 ml de uma mistura de Percoll e amostra polimérica (6 μl) em água. Durante a centrifugação a 20000 min^{-1} e em tempos menores que 20 min é gerado um gradiente de densidade na fronteira de sedimentação das partículas de Percoll (diâmetros entre 5 e 35 nm). As partículas (microcristais, dispersões poliméricas, células de bactéria) atingem a posição isopícnica nessas condições e são observadas como bandas de turbidez nas fotos Schlieren. É possível fracionar, estimar a densidade média e/ou a distribuição da densidade do partículas, obtendo informação sobre composição e/ou possível heterogeneidade química.

A faixa de densidade de gradientes de Porcoll obtidos desta forma ($1,000 - 1,135 \text{ g/cm}^3$) pode ser ampliado para $0,85-1,15 \text{ g/cm}^3$ substituindo água por metanol e /ou água pesada. Para obter uma precisão de 0,3% na determinação de densidade, o diâmetro mínimo das partículas deve ser em torno de 300 nm.

A técnica de osmocentrifugação (descrita no item 1.4. desta introdução) permite gerar gradientes de densidade com soluções macromoleculares usando centrífuga de baixa velocidade. Neste caso o volume do gradiente pode variar entre alguns ml até dezenas de ml e os tempos de centrifugação variam entre poucos minutos até aproximadamente tres horas. O bandeamento de homáceas é conseguido em uma única etapa neste tipo de experimento (10).

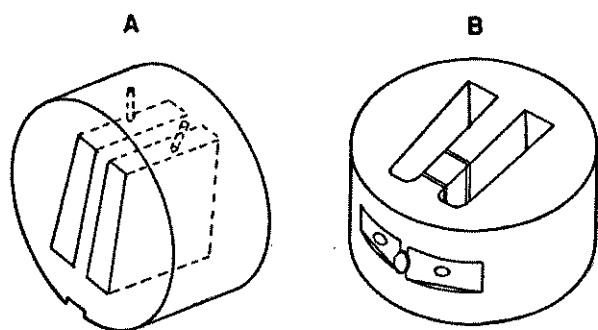


Figura 3. Células de ultracentrifugação analítica.

A: bisetorial; B: de fronteira sintética.

I.1.3. Determinação da densidade.

Nos casos em que se pretende separar os componentes de uma mistura, muitas vezes não é preciso conhecer exatamente os parâmetros do gradiente. Caso, por exemplo seja necessário conhecer a densidade de flutuação das partículas ou se pretenda calcular seu coeficiente de sedimentação, deve-se medir as densidades em todos os pontos do gradiente. Estas medidas são mais comumente realizadas de forma indireta através do índice de refração, quando a relação entre densidade e índice de refração é linear.

A determinação direta da densidade é preferível, picnómetros convencionais são inconvenientes pelo tamanho, mas é possível pesar pequenos volumes em micropipetas permitindo obter densidades com precisão de $0,001 \text{ g/cm}^3$. Com maior precisão a densidade pode ser determinada em densímetros do tipo Kratky (11) onde a amostra líquida é colocada em um tubo em forma de U, preso rigidamente nas extremidades abertas. O tubo é excitado eletromagneticamente e vibra com uma frequência que depende da densidade da amostra. A densidade é calculada a partir do período de oscilação do tubo, medido através de um frequencímetro.

Uma outra forma de calibrar um gradiente é usando marcadores de densidade. São partículas visíveis, de densidade conhecida. Existem varios tipos, por exemplo esferas de vidro ou de plástico coloridas, com densidade na faixa de 1 a 2 g/cm^3 e partículas coloridas de dextranas reticuladas (Density Marker Beads da Pharmacia) para calibração de gradientes de Percoll na faixa de $1,02$ a $1,14 \text{ g/cm}^3$. Estes marcadores são de tamanho suficiente para migrarem instantaneamente para sua posição isopícnica.

1.1.4. Aplicações da sedimentação em gradientes de densidade.

1.1.4.1. Separação e fracionamento.

Um experimento em ultracentrífuga preparativa usando volumes de no mínimo 4-5 ml permite recuperar as frações de uma amostra heterogênea e/ou componentes de uma mistura. Existem vários tipos de rotores que são utilizados neste tipo de experiências; alguns são mostrados na figura 4. Nos rotores do tipo (A) e (B) o gradiente e a amostra são colocados em tubos de nitrato de celulose, polipropileno, aço inox ou de vidro, no caso de centrífugas de baixa velocidade. As frações são retiradas com seringa ou bomba peristáltica pelo topo ou pelo fundo, fazendo-se um orifício no tubo. Nos casos (C) e (D) o gradiente de densidade é colocado diretamente no rotor. Durante a aceleração o gradiente se reorienta, alinhando-se com a perpendicular ao eixo de rotação. Com o rotor na velocidade de operação a suspensão (amostra) é bombeada para dentro, pelo topo. Após a centrifugação, durante a desaceleração o gradiente se reorienta novamente ficando paralelo ao eixo de rotação. As frações são retiradas pelo fundo do rotor.

O poder de resolução desta técnica é muito superior ao da centrifugação diferencial, onde apenas o material que sedimenta mais devagar pode ser recuperado em forma pura, onquanto que o método do gradiente fornece o espectro de densidades da mistura. A sensibilidade da posição da faixa do material macromolecular às variações de densidade permite medições de alta exatidão. Podem ser preparados gradientes nos quais se percebe diferenças de densidade de $1 \cdot 10^{-6} \text{ g/cm}^3$ (12). Este método tem também a enorme vantagem de se poder recolher as frações para ser analisadas posteriormente por diversas técnicas de análise (espectroscopia NMR, IV, etc).

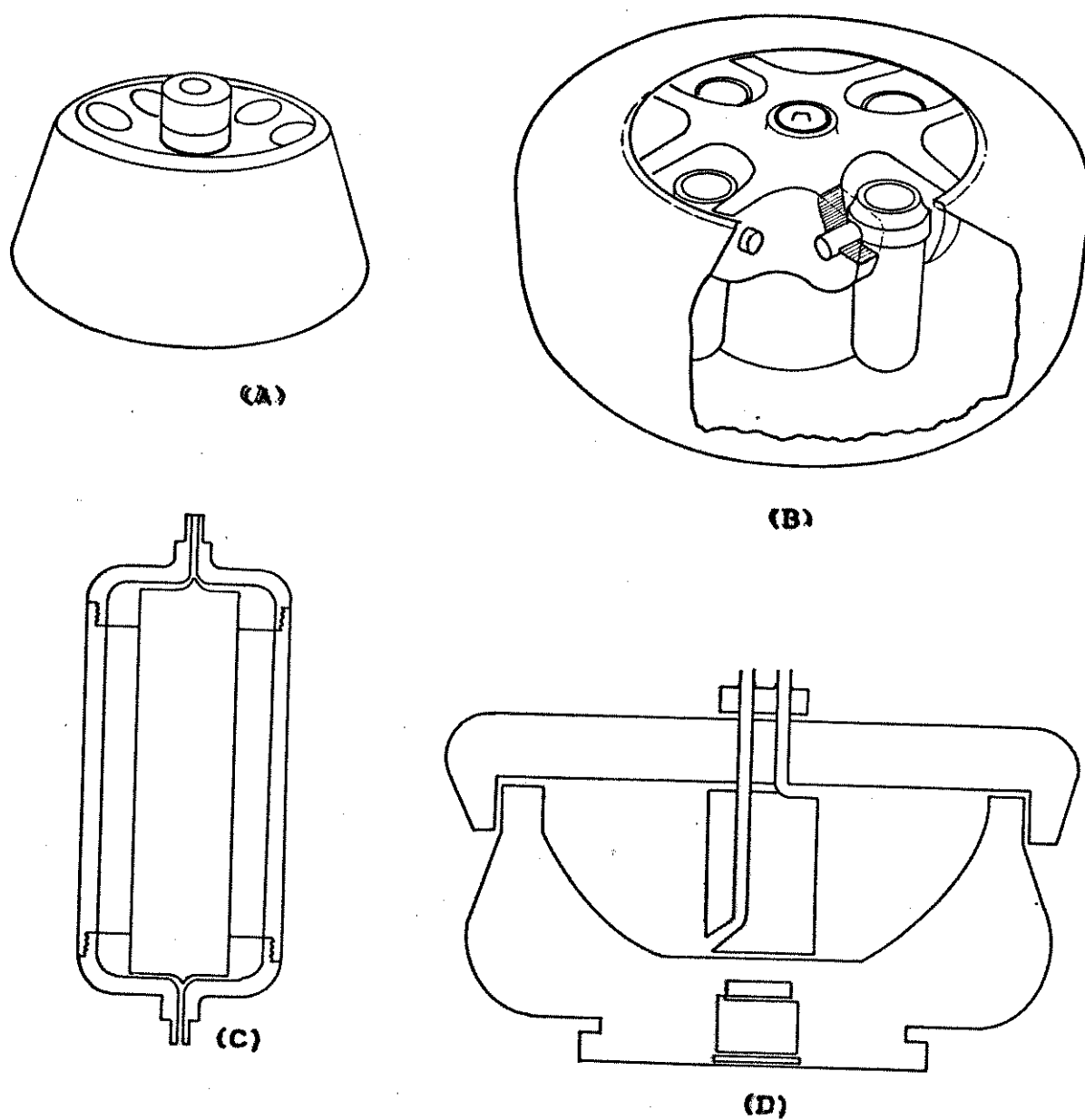


Figura 4. Rotores de ultracentrífuga preparativa. (A) ângulo fixo; (B) basculante (swinging bucket); (C) tipo K; (D) tipo JZ (C e D são rotores para volumes grandes de suspensão e operam por reorientação do gradiente (1), vide texto).

Esta técnica foi introduzida em 1957 por Meselson, Stahl e Vinograd (6), que conseguiram separar diferentes espécies de DNA em gradiente de CsCl na ultracentrífuga. Muitos problemas que não podiam ser estudados pelas técnicas disponíveis até essa época, puderam ser explorados através deste tipo de experimento. A técnica alcançou um estado de desenvolvimento considerável, apresentando uma enorme utilidade principalmente nas áreas de Bioquímica e Biologia Molecular (1). É hoje possível analisar ou separar praticamente qualquer tipo de partícula biológica em forma intacta e com elevado grau de pureza usando gradientes de densidade. O estudo de solos, micropartículas dos mais diversos tipos e macromoléculas em solução também utilizam esta técnica.

Exemplos específicos de aplicação de ultracentrifugação em gradientes de densidade na área de polímeros sintéticos:

- Uma mistura de poliestireno atático ($M=5 \cdot 10^5$) e poliestireno estereoregular ($M=20 \cdot 10^5$) foi centrifugada em gradiente de bromoformio/benzeno; após 56 horas de centrifugação a 33450 rpm os dois materiais formaram duas bandas separadas. O poliestireno isotático resultou ser mais denso (0.028 g/cm^3) que o poliestireno atático. Esta diferença é maior que a diferença entre os inversos dos volumes parciais específicos, indicando que a solvatação preferencial em mistura de solventes pode depender da estereoregularidade do polímero em solução (13,14).

Stacy (15) utilizando esta técnica determinou heterogeneidade da composição em copolímeros estireno-butadieno. Dependendo da massa molar dos polímeros o equilíbrio é atingido entre 20 a 60 horas em gradiente de tetracloreto de carbono-ciclohexano a 59780 rpm. Com copolímeros de composição conhecida ele fez uma calibração (% estireno x densidade) para copolímeros bloco e ao acaso.

Da posição das bandas é determinada a composição do polímero, a forma da banda dá informação sobre distribuição da composição e/ou qualitativamente sobre massa molar. Bandas finas correspondem a material de alta massa molar, bandas largas a materiais de baixa massa molar, bandas simétricas são obtidas com materiais homogêneos e assimétricas com heterogêneos.

- A técnica é muito útil na determinação de pureza de copolímeros enxertados. Ende e Stannett (16) analisaram quatro copolímeros enxertados de estirano-acetato de celulose de cadeias laterais de massa molar de 28000 e 120000. Em gradientes de solução de bromoformio e dimetilformamida foi observado que o copolímero de cadeias laterais longas contém poliestireno, mesmo depois de repetidas extrações com benzeno, enquanto que o de cadeias laterais curtas se encontra puro. Foi observado também que a distribuição da composição dos copolímeros não é contínua.

- Em gradiente de densidade de Percoll, em tempo curto (<1 h) e frequência de rotação de 20000 min^{-1} é possível determinar densidade e separar vários tipos de partículas (9). Foi observada a separação de látexes de dois copolímeros de composição diferentes (densidades de 1.014 e 1.039 g/cm^3) e determinada a faixa de densidade e composição de microcápsulas de papol carbono ($0.94 - 0.98 \text{ g/cm}^3$).

- Com o método de Lange (8), descrito anteriormente em 1.1.2.2., os experimentos tomam tempos ainda mais curtos. Por exemplo a separação de uma mistura de látexes de copolímero butadieno-estireno, poliestireno e copolímero acetato de vinila-etileno em gradiente de $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ demora 15 minutos a 4000 min^{-1} .

O método é de interesse especial para o estudo de copolímeros uma vez que a caracterização de amostras polidispersas em

massa molar e composição química foi e continua a ser um problema difícil. No entanto as dificuldades na interpretação dos resultados obtidos com amostras deste tipo são muito maiores que as encontradas em estudos biológicos de espécies bem definidas.

I.1.4.2. Determinação de coeficiente de sedimentação.

A definição do coeficiente de sedimentação, $S_{T,m}$, num molo m e na temperatura T , é :

$$S_{T,m} = \frac{(dx/dt)}{w^2 x} \quad [2]$$

onde w : velocidade angular

x : distância do eixo de rotação à zona do material macromolecular ou particulado

dx/dt : velocidade de movimento da zona de material macromolecular ou particulado.

O coeficiente de sedimentação é normalmente extrapolado ao estado padrão, definido como sendo água a 20 °C:

$$S_{20,w} = S_{T,m} \frac{\eta_{T,m} (\rho_p - \rho_{20,w})}{\eta_{20,w} (\rho_p - \rho_{T,m})} \quad [3]$$

onde ρ_p : densidade das partículas

η : viscosidade

T,m : temperatura , molo experimental

$20,w$: 20°C , água

As equações [2] e [3] podem ser aplicadas à sedimentação em gradiente de densidade, considerando-se as variações de viscosidade e densidade com a contração do formador de gradiente.

Combinando [2] e [3] obtemos

$$S_{20,w} = \frac{(dx/dt)}{w^2 x} \frac{\eta_{T,m}}{\eta_{20,w}} \frac{(\rho_p - \rho_{20,w})}{(\rho_p - \rho_{T,m})} \quad [4]$$

ou

$$\int w^2 S_{20,w} dt = \frac{\rho_p - \rho_{20,w}}{\eta_{20,w}} \int \frac{\eta_{T,m}(x)}{(\rho_p - \rho_{T,m}(x))} \frac{dx}{x} \quad [5]$$

O coeficiente de sedimentação pode ser calculado por esta equação desde que se conheçam todos os parâmetros envolvidos e se possa calcular a integral do lado direito da equação [5].

Quando o gradiente de densidade e viscosidade é tal que a velocidade de sedimentação dos materiais é constante (gradiente isocinético) a razão das distâncias de migração de duas ou mais substâncias é constante. No caso de materiais de volumes parciais específicos muito próximos, essa razão corresponde à razão entre os coeficientes de sedimentação (17):

$$R = \frac{\text{distância migrada por A}}{\text{distância migrada por B}} = \frac{S_{20,w} (A)}{S_{20,w} (B)} \quad [6]$$

Logo a comparação entre uma macromolécula desconhecida (A) e um padrão com S conhecido (P) permite o cálculo de S dessa macromolécula sem requerer o controle rigoroso de temperatura, tempo e velocidade de centrifugação. A desvantagem desta técnica é que os gradientes são não lineares e devem ser primeiro calculados e depois preparados; e são diferentes para cada concentração de sal ou sacarose, densidade de partículas e dimensão do rotor.

Uma outra alternativa é o uso de tabelas para a determinação de coeficientes de sedimentação em gradientes lineares de

sacaroso (10). Neste caso devem ser feitas várias interpolações gráficas, e só há dados disponíveis para algumas temperaturas.

A determinação mais exata do coeficiente de sedimentação é obtida pelo tratamento descrito no início deste item, inicialmente proposto por Martin e Ames (17). Este método tem sido aplicado utilizando programas de computação (19-21) onde S é calculado diretamente. Ele pode ser aplicado independentemente de dimensões de tubo e rotor, tipo de gradiente e densidade do material macromolecular desde que se conheça a densidade e viscosidade do meio ao longo do gradiente.

1.1.4.3. Determinação de massa molar.

Num experimento de equilíbrio em gradiente de densidade com uma amostra macromolecular homogênea quimicamente, num ponto (r_0) na célula a densidade ($\rho(r_0)$) é igual ao inverso do volume parcial específico da macromolécula. Estabelece-se um equilíbrio entre as tendências de difusão e sedimentação, fazendo com que as macromoléculas se distribuam simetricamente em torno de r (Figura 5).

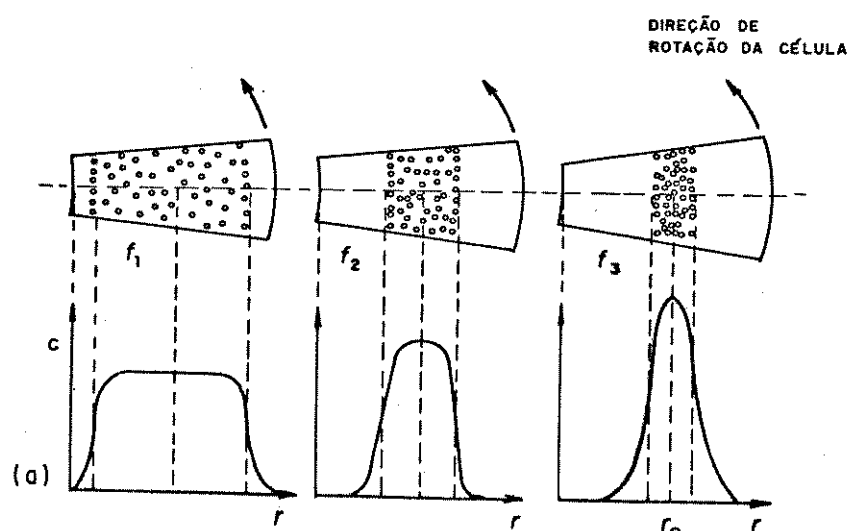


Figura 5. Estabelecimento do equilíbrio de sedimentação e equilíbrio isopícnico, num gradiente de densidade. (a) Variação da concentração na célula com o tempo.

A equação que descreve o gradiente de concentração de um soluto, no equilíbrio, em uma solução ideal binária, pode ser usado para descrever o equilíbrio de sedimentação de macromoléculas, lembrando que a densidade depende da distância ao eixo de rotação.

$$\frac{1}{c} \frac{dc}{dr} = \frac{w^2 r M (1 - \bar{v} \rho)}{R T} \quad [7]$$

Para a região em torno de r_0 , pode-se supor que o gradiente de densidade seja linear:

$$\rho(r) = \frac{1}{\bar{v}} + (r - r_0) \frac{d\rho}{dr} \quad [8]$$

Combinando [7] e [8] obtemos

$$\frac{1}{c} \frac{dc}{dr} = \frac{w^2 r M}{R T} \bar{v} (r - r_0) \frac{d\rho}{dr} \quad [9]$$

e considerando $r = r_0$

$$(r - r_0) dr = d(r - r_0)^2 / 2$$

temos que

$$d(\ln c) = \frac{w^2 r_0 M}{2 R T} \bar{v} \frac{d\rho}{dr} d(r - r_0)^2 \quad [10]$$

e integrando

$$c(r) = c(r_0) \exp \left\{ - \frac{w^2 r_0 M \bar{v}}{2 R T} \frac{d\rho}{dr} (r - r_0)^2 \right\} \quad [11]$$

que é a equação de uma curva gaussiana centrada em r com desvio padrão igual a σ , com

$$\sigma^2 = \frac{R T}{w^2 M \bar{v} r_0} \left(\frac{dp}{dr} \right)_{r_0}^{-1} \quad [12]$$

Assim, no equilíbrio, o componente macromolecular está distribuído numa faixa gaussiana em torno de r e a largura dessa faixa depende de $M^{-\frac{1}{2}}$.

Esta relação mostra que é possível, em princípio, obter o peso molecular a partir da largura da banda de soluto quando o estado de equilíbrio foi atingido no gradiente de densidade. No entanto, na prática a técnica é pouco empregada para estes fins. Em primeiro lugar a largura da banda depende também de heterogeneidade química, logo o método só pode ser aplicado a amostras homogêneas quimicamente. Outro aspecto é o fato de considerar que a solução é ideal o que nem sempre é o caso; os efeitos dos desvios da idealidade devem ser então considerados. Por outro lado, quando a massa molar é muito elevada a zona é muito estreita e a largura não é suficientemente sensível à massa molar. Considerando estas complicações, Schmid e Hoarst (22) e Daniel (23) determinaram a massa molar de amostras de DNA na faixa de 10^6 a 10^8 , obtendo bons resultados comparados com os obtidos por outros métodos bem estabelecidos.

Uma outra alternativa é usar os coeficientes de sedimentação, cuja determinação foi descrita no item anterior, para estimar massas molares quando é conhecida a relação entre massa molar e coeficiente de sedimentação. Por exemplo, para DNA do fago T4, Studier (24) encontrou a equação empírica

$$M = 1.561 \cdot 10^3 (S_{20,w})^{2.5} \quad [13]$$

Um procedimento alternativo para determinação de massa molar de proteínas é através de calibração previa com amostras padrão em experimento de centrifugação em gradiente linear de sacarose (25). Foi encontrada uma relação linear entre os logaritmos da massa molar e da distância de migração, na faixa de $M = 12000$ a 240000 . O experimento pode ser realizado em presença de acrilamida que é fotopolimerizada com luz ultravioleta após a centrifugação, quando se forma um gel no qual são immobilizadas as bandas sedimentadas. Este é retirado do tubo e tratado com um corante para detecção das bandas de proteínas e medição das distâncias de migração.

1.2. DISPERSÕES COLOIDAIS

Uma dispersão coloidal consiste num meio de dispersão (fase contínua) no qual estão dispersas as partículas coloidais (fase dispersa) com dimensões na faixa de 1-10 nm. Quando a fase dispersa é sólida se faz distinção baseada na natureza polimérica ou não das partículas. No primeiro caso (polímeros orgânicos) a dispersão é chamada de látex e no segundo caso (metais, sais inorgânicos) é chamada de sol. Quando o tamanho de partículas é maior que 1 μm fala-se de suspensão.

A característica essencial comum a todas as dispersões coloidais é a grande relação área/volume das partículas envolvidas. Nas interfaces (fase dispersa/meio de dispersão) manifestam-se fenómenos de superfície característicos, tais como de adsorção e de dupla camada elétrica.

1.2.1. Estabilidade de coloides.

A estabilidade de uma dispersão (que se opõe à agregação) é determinada pela interação entre as partículas durante os choques que ocorrem como resultado do movimento browniano.

Na teoria DLVO (26,27) a estabilidade de sóis líofobos (fase dispersa e meio de dispersão são incompatíveis) é tratada em termos das variações de energia que ocorrem quando as partículas se aproximam umas das outras. Considera que a energia potencial de interação entre um par de partículas é a resultante de duas componentes:

- uma energia de repulsão, V_r , devida à superposição de duplas camadas elétricas, e
- uma energia de atração, V_a , devida às forças de van der Waals.

Ou seja:

$$V = V_a + V_r$$

A curva de energia potencial em função da distância de separação entre as superfícies das partículas se encontra na figura 6.

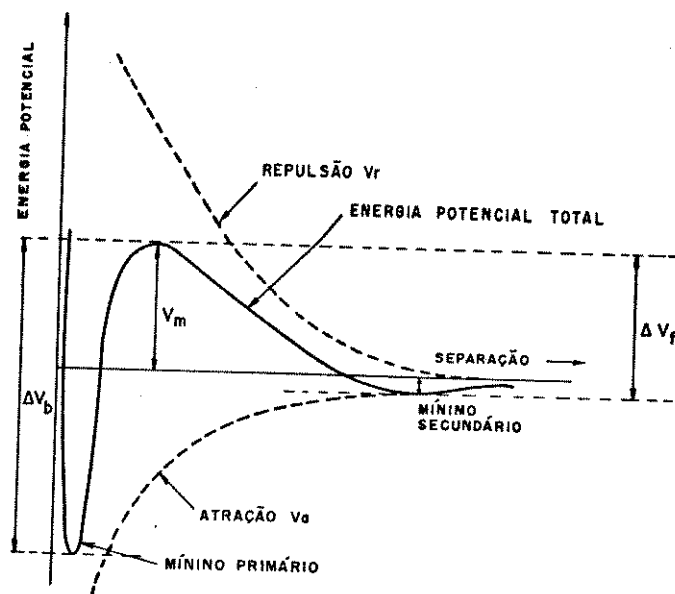


Figura 6. Esquema da curva de energia potencial em função da distância de separação, na interação entre duas partículas.

A combinação dessas duas forças (van der Waals e repulsão eletrostática) determina um mínimo de energia potencial a uma distância de separação pequena, denominado mínimo primário. Em distâncias intermediárias o termo de repulsão predomina e ocorre um máximo primário de magnitude V_m . A magnitude dessa barreira depende das dimensões das partículas e do potencial superficial. Com partículas relativamente grandes a curva de energia potencial pode apresentar um mínimo secundário.

A barreira de energia para ocorrer associação de partículas no mínimo primário está representada por ΔV_f e a barreira para redispersão desde esse mínimo, por ΔV_b . Alguns autores se referem a coagulação quando se trata da associação de partículas no mínimo primário (essencialmente irreversível) e a floculação quando o efeito é de um mínimo secundário (os agregados são facilmente redispersos por agitação).

Pequenas quantidades de eletrólito podem levar a desestabilização de uma dispersão. O eletrólito provoca uma compressão das partes difusas das duplas camadas que envolvem as partículas (Figura 7), ou podem também ser adsorvidos para dentro da camada de Stern, reduzindo o alcance das interações repulsivas. A coagulação ocorre quando as partículas conseguem se aproximar até o ponto em que passam a predominar as forças atrativas de van der Waals. A concentração de eletrólito necessária para que isso ocorra depende principalmente da carga elétrica dos íons de carga contrária à da superfície da partícula.

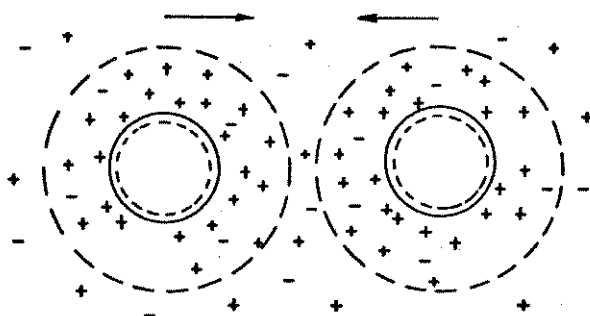


Figura 7. Representação esquemática da origem da estabilização eletrostática para partículas de carga superficial negativa.

Além das atrações de van der Waals e repulsões de dupla camada elétrica a estabilidade de dispersões pode ser influenciada por outros efeitos. A adsorção de certas moléculas (surfactantes ou macromoléculas) na superfície da fase dispersa pode manter a dispersão estabilizada em condições em que na sua ausência a coagulação ocorre. Este efeito é denominado de estabilização estérica (Figura B) e sua influência na curva de energia potencial é de aumentar a altura da barreira de energia V_m .

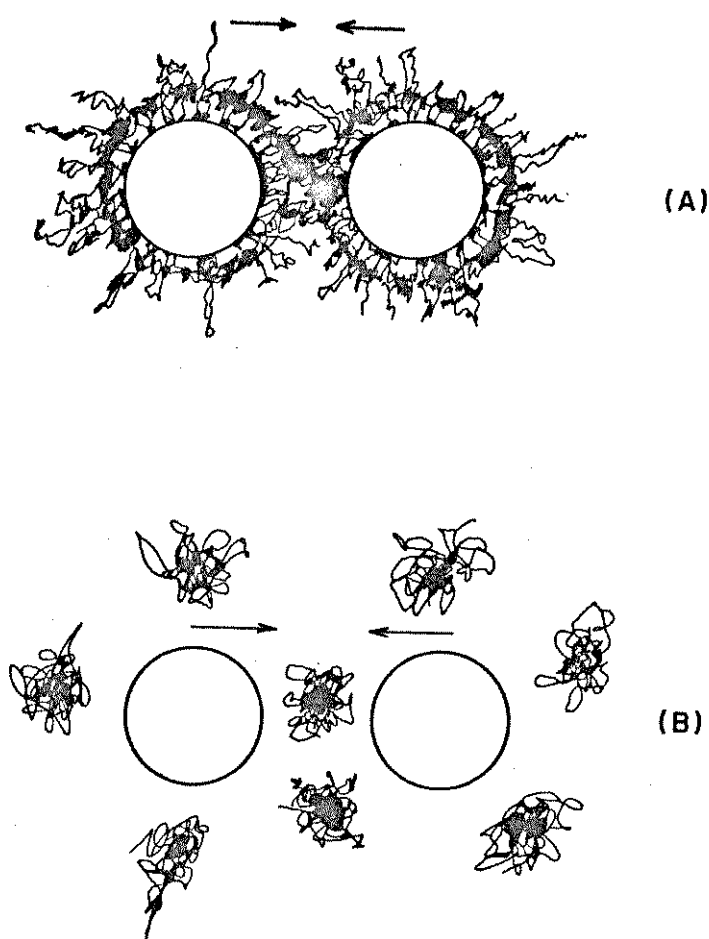


Figura B. Representação esquemática de estabilização por polímeros: (A) Estabilização estérica
(B) Estabilização por depleção.

A teoria DLVO tem sido extensamente examinada e revisada com grande progresso teórico, tanto na avaliação das forças de van der Waals (28-31) como na da dupla camada (32,33). De outro lado se tem conseguido considerável sucesso no desenvolvimento de técnicas experimentais para medir essas duas forças e construir as curvas de energia potencial. A sua aplicabilidade tem sido confirmada em muitos estudos experimentais de dispersões aquosas (34). Alguns resultados obtidos com dispersões não-aquosas podem ser explicados pela teoria DLVO, em outros casos surgem inconsistências e outras forças repulsivas que não as eletrostáticas devem ser consideradas. Isto ocorre principalmente em sistemas não-aquosos contendo surfactante não-iônico ou estabilizantes poliméricos. Por exemplo a estabilidade de partículas de negro de fumo dispersas em hidrocarbonetos aumenta consideravelmente por adsorção de hidrocarbonetos aromáticos de cadeia alifática longa (35).

Provavelmente o melhor método para determinar a dependência de interações estéricas com a distância de separação é a compressão de cadeias poliméricas fixadas a objetos macroscópicos. A técnica que utiliza cilindros de mica tem sido a de maior sucesso (36-39). Klein realizou a experiência com poli(estireno) adsorvido na superfície da mica em ciclohexano (40,41) e ciclo-pentano (42), e Israelachvili (43) usou poli(óxido de etileno) adsorbido na mica e solução aquosa de sulfato de magnésio como fase contínua. Os resultados mostram que as interações dependem do solvente (bom ou mau) da massa molar do polímero adsorvido, da temperatura; no caso do poli(óxido de etileno) foram obtidas evidências de formação de pontos entre as cadeias poliméricas, o que não acontece com poliestireno.

Polímeros podem afetar a estabilidade de dispersões de diferentes formas. Em concentrações muito baixas podem provocar

floculação formando pontos entre as partículas. A concentrações maiores se pode observar estabilização estérica, que pode ser homostérica ou heterostérica se as partículas se encontram envolvidas por camadas de um mesmo polímero ou por dois polímeros diferentes, respectivamente. Estabilização por depleção (Figura 8 B) é outra forma de estabilização por macromoléculas, neste caso elas se encontram livres no meio de dispersão. Estes efeitos e outros são muito estudados, existem diversas descrições teóricas de interações estéricas (44,45). São de grande importância no controle de propriedades de diversas dispersões, como tintas, sangue, solos, emulsões farmacêuticas, etc.

1.2.2. Látexos poliméricos.

Látexes são suspensões de partículas poliméricas em água. Há uma grande variedade de plantas e árvores tropicais que produzem látex, mas a principal fonte de látex natural é a "Hevea brasiliensis" (seringueira). Sua composição química é principalmente cis-1,4-polisopreno misturado com pequenas quantidades de proteínas, lipídios, sais inorgânicos e uma série de outros componentes.

Os látexes de polímeros sintéticos são em geral preparados por polimerização em emulsão (46,47), ou polimerizados em solução e posteriormente dispersos por métodos mecânicos ou de solução/precipitação. Dispersões são preparadas através de moagem (moinho de bolas, rolos, etc) em condições adequadas e na presença de agente dispersante (surfactante ou alguns fosfatos).

Alguns testes feitos com látexes para determinação de suas propriedades coloidais são: conteúdo de sólido, viscosidade, tensão superficial, densidade, tamanho de partículas, quantidade de surfactante, estabilidade mecânica e frente a fons, etc. Em relação ao polímero os testes usados são: massa molar, granulação, resistência à água, densidade, conteúdo de cinzas, brilho, abrasão, elasticidade do filme, etc. Na prática, só são feitos aqueles testes que são significativos na aplicação final do látex polimérico.

Para dar ao látex as características adequadas (à dispersão e ao polímero sólido resultante da secagem) são adicionados vários compostos (na forma de soluções ou dispersões aquosas), dependendo da aplicação específica.

As propriedades coloidais são controladas através do uso de estabilizantes, preservantes, espessantes e antiespumantes. Como estabilizantes são usados compostos capazes de se orientar

na interfase polímero-solução aquosa fazendo diminuir a tensão interfacial e aumentando assim a estabilidade da emulsão. Entre estes compostos estão os surfactantes, bases, ácidos graxos, etc. Certos componentes do látex podem servir como nutrientes para bactérias e fungos (especialmente em látex natural), e se faz necessário adicionar compostos como amoníaco, formaldeído, etc., que atuam como fungicidas ou bactericidas, para proteger tanto o polímero como o substrato (carpete, móveis, etc.) onde vai ser aplicado. Em muitos casos é desejada uma viscosidade maior que a do látex já estabilizado, e são adicionados espessantes. São polieletrólitos que aumentam a viscosidade da fase aquosa, e em proporções adequadas contribuem também para a estabilização do látex.

A adição de agentes tensoativos provoca formação de espuma que às vezes é indesejável; devem ser então usados antiospumantes no látex. Agentes antiespumantes são em geral óleos insolúveis em água, siliconas, álcoois graxos de cadeia longa, etc.

Para controlar as propriedades físicoquímicas do polímero são usados aceleradores, antioxidantes, plastificantes, cargas e desodorizantes. Os aceleradores usados são normalmente produtos da reação entre aldeído e amina, derivados da guanidina, tiazóis e seus derivados, tiuramas e ditiocarbamatos. Óxidos de enxofre e zinco são também essenciais no caso de se fazer vulcanização. Este processo melhora a resistência mecânica e a elasticidade do material polimérico e reduz sua sensibilidade às variações de temperatura (48).

A função de antioxidantes é melhorar a resistência ao envelhecimento e o aparecimento de cor protegendo o polímero da decomposição por oxidação. Entre os compostos usados estão alguns fosfitos e fenóis.

As cargas em latexos funcionam como pigmentos e como diluentes para abaixar o custo final do produto. Materiais comumente usados são argilas, giz pulverizado, baritas e em menor proporção mica, TiO_2 e talco. Alguns pigmentos inertes são também usados, como óxidos de ferro (vermelho, amarelo, laranja), óxido de cromo (verde), óxido de titânio (branco) e ultramarino (azul). Outros bastante usados também são: carbonato de cálcio, de diferentes tipos: pedra calcária (com diferentes características) e $CaCO_3$ precipitado (com diferentes tamanhos de partículas). Alguns são de muito baixo custo e podem ser usados em quantidade relativamente grande sem exercer efeitos desfavoráveis.

Os plastificantes melhoram as propriedades de elasticidade, adesão, flexibilidade em temperaturas baixas evitando o aparecimento de regiões quebradiças. Os mais usados, devido ao seu baixo custo são hidrocarbonetos (aditivos de processo). Ésteres como dioctil ftalato e dibutil sebacato são também usados, especialmente para melhorar as propriedades mecânicas em baixa temperatura.

Como endurecedores são usadas resinas de cumarona e de uréia ou fenol-formaldeído, além de emulsões de polímeros de T_g alto para dar maior tenacidade aos produtos finais do látex.

As vezes o cheiro é um problema sério em látexes, tanto no estado líquido como no produto final. São usados perfumes para mascarar o cheiro ou formaldeído para insensibilizar o olfato. Oleo de pinho, cânfora e óleo de gaultéria são também comumente usados.

Aplicações (49):

- O principal uso de látex é na fabricação de espumas de borracha em colchões, almofadas, avesso de tapetes e aplicações similares.

é preparada uma espuma com o látex, colocada num molde; o látex é coagulado antes da espuma colapsar, é reticulado, lavado e seco.

- Muitos artigos como luvas, balões, cintos, calçados leves, etc. são feitos mergulhando fôrmas em látexes adequados. As vezes esta forma é mergulhada por várias vezes até obter a espessura desejada. Em outros casos a forma é mergulhada alternadamente no látex e numa solução que coagula o látex.

- Fibras de látex são obtidas por extrusão através de tubos capilares, seguida de coagulação em ácido acético. O fio coagulado é lavado sob tensão, seco, reticulado e enrolado em bobinas. São usados em faixas elásticas, acabamentos de roupas, etc.

- Produtos como brinquedos e bonecos são preparados por deposição de látex na parte interna de moldes ocos. Para obter uma distribuição uniforme o molde é rotado em dois eixos simultaneamente (processo Kaysam (50)). O material depositado é lavado, seco e reticulado.

- Na fabricação de papel, um látex adequado pode ser adicionado antes da polpa entrar na máquina que a transforma em papel. Pode também ser adsorvido na folha pronta, antes de secar. Diferentes tipos de látex são usados para melhorar a resistência à umidade, rasgaduras e solventes. Quando usado em quantidade maior são obtidos revestimentos.

- Outra aplicação importante de látexes é em adesivos. São escolhidos ao invés de cimentos de borrachas pois tem alto conteúdo de sólidos com baixa viscosidade, pouco cheiro e não apresentam riscos frente a chamas e solventes nem problemas de toxidez ou hábito. Um dos mais comuns é o látex de poli(acetato de vinila) (PVA), que apresenta uma serie de vantagens frente a outros devido a que não requer etapa de reticulação, permite impressão e lixamento normais, é transparente, não é tóxico e pode ser usado na

forma em que é fornecido. Algumas das populares colas brancas para papel, madeiras, etc. são simplesmente emulsões de PVA com uma pequena quantidade de plastificante (51). Látex natural, borracha estireno-butadieno (SBR) e neopreno são usados como adesivos na fabricação de calçados.

Quando misturados com resinas são obtidos diferentes tipos especiais de adesivos. A força de adesão é muitas vezes melhorada aumentando a polaridade pois esta favorece o entumescimento, contato e deslocamento de ar. Geralmente compostos de baixo peso molecular são mais polares, mas tem baixa força de coesão. Por este motivo muitos adesivos são uma combinação de um polímero de alto peso molecular para uma coesão adequada e resinas de peso molecular menor para uma boa adesão (aditivos de pega, ou "tacking").

- Tintas látex são de fácil aplicação, tem boa adesão ao substrato, pouco cheiro, boa velocidade de secagem, são fáceis de limpar e tem boa resistência à água e álcali. Algumas desvantagens (comparadas a tintas a óleo) é que penetram menos nas superfícies e que a sua boa resistência a álcali faz a sua remoção difícil.

Entre os polímeros usados estão SBR (usado só em interiores devido ao seu envelhecimento provocado pela luz), látexes acrílicos e de PVA (adequados para interiores e exteriores, pois tem vida longa e podem ser aplicados sobre superfícies úmidas, cimento e gesso). A maior desvantagem de tintas látex para exteriores tem sido a pouca adesão a superfícies gredosas e o manchamento devido a materiais coloridos extraíveis de algumas madeiras. Tintas de látex acrílico são também recomendadas para manutenção de metais e concretos.

Látex de neopreno tem sido usado para revestimento de tanques para transporte de soda cáustica.

- Látexes poliméricos são também usados em pigmentos para colorir tecidos, polimentos para pisos, acabamentos de couro, cimentos e asfaltos, na fabricação de roupas impermeáveis, e em muitas outras aplicações.

1.2.3. Fracionamento de partículas.

Amostras de polímeros polidispersos podem ser fracionados por precipitação ou dissolução fracionada, uma vez que em geral a solubilidade diminui com o aumento da massa molar. O procedimento é demorado e geralmente leva dias de trabalho.

Uma técnica mais interessante é a de filtração em gel ou de cromatografia de permeação em gel (GPC); a amostra polidispersa passa por uma coluna empacotada com um gel, onde as moléculas menores são retardadas por difusão dentro e fora dos poros. Como resultado da passagem da amostra pela coluna, em condições adequadas se pode obter um fracionamento em relação a massa molar de alta resolução.

Já para fracionamento de amostras poliméricas na forma de látex a cromatografia não é aplicável. As técnicas usadas são as de centrifugação descritas no item 1.1. desta introdução, onde o fracionamento pode ocorrer em relação a tamanho de partículas (experiências de velocidade de sedimentação) ou em relação a densidade/composição química (experiências isopícnicas).

Nos últimos anos, a família de técnicas de separação conhecidas como "field-flow fractionation" (FFF) tem mostrado grande potencialidade para análise e separação de misturas de polímeros em solução, emulsões e partículas em suspensão. O método foi inicialmente proposto por J. C. Giddings em 1966 (52). Consiste em aplicar um campo ou gradiente perpendicularmente ao fluxo

através de um canal para conseguir redistribuir o material da amostra e provocar desta forma a separação. A configuração do canal e o princípio básico da técnica se encontram esquematizados na figura 9. Na prática há um paralelo com a cromatografia: uma bomba controla o fluxo do líquido, a amostra é injetada na entrada do canal e o fluido eluído é monitorado por um detector e um registrador. A natureza do canal e o mecanismo de fracionamento (53) são diferentes. O campo externo aplicado força o soluto para uma das paredes do canal, e o perfil diferenciado do fluxo carrega a zona a velocidades diferentes dependendo da sua distância desde o centro do canal, onde a velocidade do fluxo é máxima. O campo externo aplicado pode ser um gradiente térmico (54,55), campo elétrico (56), campo inercial (57-59), e outros fazendo possível a caracterização de amostras em relação a diâmetro de partícula, densidade, diffusividade, carga elétrica e outras propriedades.

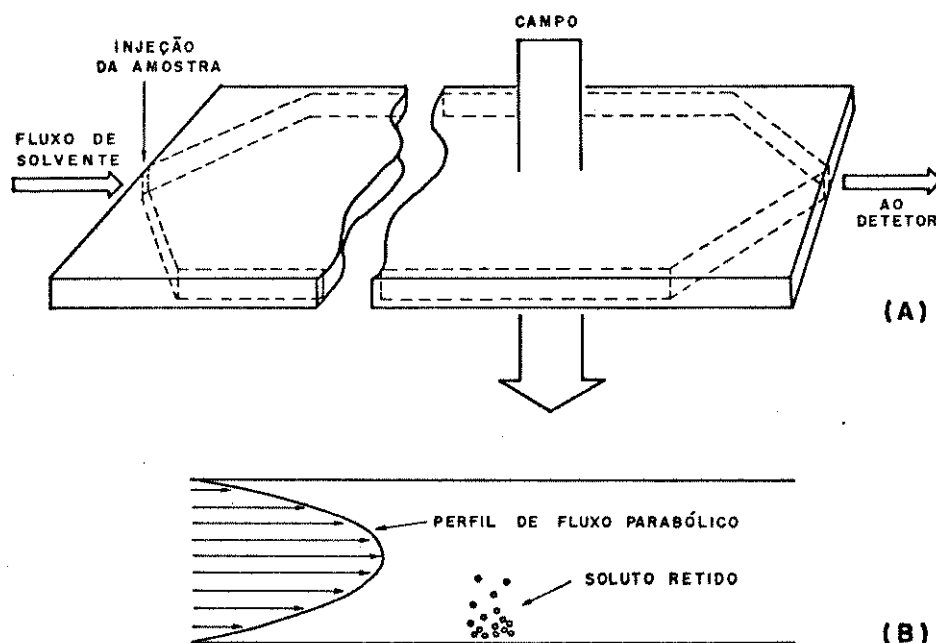


Figura 9. (A) Configuração de um canal para fracionamento "field-flow", (B) corte transversal do mesmo.

1.3. MEMBRANAS SINTÉTICAS.

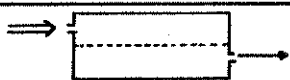

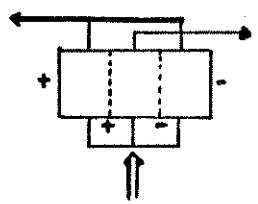
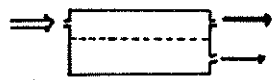
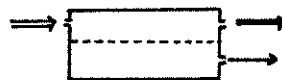
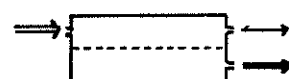
O transporte seletivo de massa através de membranas tem sido motivo de numerosas investigações por mais de um século. Só nas últimas décadas as membranas sintéticas passaram a ser utilizadas em processos industriais importantes e continuam sendo tópicos de pesquisa intensa nos diversos campos da ciência. A preparação, estrutura, aplicações, etc. se encontram bem descritas na literatura em vários artigos de revisão (60-66).

São utilizadas principalmente em processos de separação, em que uma membrana semipermeável (interfase entre duas fases fluidas), atua como barreira e, que sob a ação de uma força motriz oferece resistência diferente à passagem dos diferentes componentes de um sistema. Frente as técnicas convencionais (destilação, cristalização, extração por solventes, etc.), em muitos casos estes processos apresentam grandes vantagens: maior eficiência, menor custo e maior rapidez. Um resumo dos processos de separação por membranas mais importantes se encontra na Tabela II (64).

Atualmente membranas são usadas em grande escala para produzir água potável a partir de água do mar (67), concentrar, purificar e fracionar soluções macromoleculares (68), purificar efluentes industriais e recuperar certos componentes (69), remover uréia e outras toxinas do sangue (70). Em menor escala são usadas em muitas outras aplicações como eletrodos de membrana, liberação controlada de fármacos e defensivos agrícolas, etc.

O sucesso de toda a tecnologia mencionada se deve ao desenvolvimento de membranas adequadas para cada finalidade. Por esta razão existem membranas dos mais diversos tipos quanto a estrutura e material polimérico. Na Tabela III se encontra um resu-

Tabela II. Processos industriais de separação por membranas.

Processo	Conceito	Material Filtrado	Força Motriz	Material Retido
Microfiltração		água e espécies dissolvidas	diferença de pressão típica, 10 psi.	material em suspensão
Diálise		íons e compostos de baixa massa molar (ureia, etc.)	diferença de concentração	material em suspensão e dissolvido com massa molar > 1000
Eletrodiálise		íons	diferença de tensão (1-2V por par de células)	espécies não iônicas e macromoleculares
Osmose reversa		água	diferença de pressão típica, 100-800 psi	material em suspensão e dissolvido
Ultrafiltração		água e sais	diferença de pressão típica, 10-100 psi	material biológico, colóides e macromoléculas
Separação de gases		gases e vapores	diferença de pressão típica, 1-100 psi	gases e vapores aos quais a membrana é impermeável

----- membrana semipermeável
 ==> alimentação

—> filtrado
 —> concentrado

Tabela III. Estrutura, preparação e aplicações de membranas sintéticas

Tipo de membrana	Material	Estrutura	Preparação	Aplicações
Membranas de cerâmica e metais	argilas, sillica, óxido de Al grafito prata tungstenio	microporosa $\phi = 0.05 - 20 \mu\text{m}$ (ϕ : diâmetro de poro)	moldagem e sinterização de cerâmica ou metal	filtração a temperatura elevada, separação de gases
Membranas de polímeros sinterizados	politetrafluoretileno polietileno polipropileno	microporosa $\phi = 0.1-20 \mu\text{m}$	moldagem e sinterização de polímero em pó	filtração de suspensões, filtração de ar
Membranas poliméricas estiradas	politetrafluoretileno polietileno	microporosa $\phi = 0.1 - 5 \mu\text{m}$	Estiramento de um filme de polímero parcialmente cristalinamente cristalino	Filtração de ar, filtração de solventes orgânicos
Membranas "track-etched"	poli-carbonato, poliéster	microporosa $\phi = 0.02-20 \mu\text{m}$	Irradiação de um filme polimérico e tratamento com ácido	Filtração de suspensões, esterilização de soluções biológicas
Membranas simétricas microporosas	Esteres de celulose	microporosa $\phi = 0.1 - 10 \mu\text{m}$	Espalhamento de solução polimérica e precipitação do polímero em um não solvente	Diálise, purificação de água, esterilização
Membranas assimétricas	Esteres de celulose, poliamida, polisulfona	Camada polimérica mais densa sobre estrutura microporosa	Idem	Ultrafiltração Osmose reversa
Membranas compostas	Esteres de celulose polisulfona poliamida	Filme homogêneo de polímero sobre uma estrutura porosa	Deposição de um filme polimérico sobre uma estrutura porosa	Osmose reversa separação de soluções macromoleculares
Membranas homogêneas	Borracha de silicone	Filme homogêneo de polímero	Extrusão de um filme homogêneo	Separação de gases, pervaporação
Membranas de troca iônica	Cloreto de polivinila polietileno polisulfona	Filme homogêneo ou poroso de polímero com íons positivos ou negativos fixados	Imersão de uma resina de troca iônica em um polímero ou sulfonação e aminação de um filme polimérico homogêneo	Eletrodiálise dessalinização

mo das propriedades e aplicações de membranas sintéticas importantes (65).

Membranas assimétricas.

O desenvolvimento das membranas assimétricas por Loeb e Sourirajan (71) permitiu que ultrafiltração e osmose reversa chegassem a ser competitivas industrialmente. Consistem em uma camada de polímero muito fina (0,1-2 μm) e outra camada altamente porosa de espessura de 100 a 200 μm , que atua somente como suporte. A solução polimérica é espalhada sobre uma placa de vidro, e após um tempo de evaporação (em que se forma a camada filtrante) é coagulada colocando-a dentro de um banho de não-solvente (comumente água ou solução aquosa). Com tratamento térmico posterior, em alguns casos, as características de retenção são melhoradas. Elas podem ser preparadas na forma plana (Figura 10 b), de tubos ou também como fibras ocas (Figura 10 a) com a camada filtrante na parede interior ou exterior da fibra.

Estas membranas permitem separações mais rápidas e eficientes, e a obstrução de poros por solutos retidos é menor que no caso de membranas simétricas de igual espessura. Apresentam um certo grau de compactação na matriz porosa e talvez também da camada filtrante o que faz com que o fluxo apresente uma diminuição durante o uso.

Outro tipo de membranas assimétricas (membranas compostas) é preparado formando um filme polimérico muito fino sobre uma estrutura porosa (72,73). A espessura deste filme pode ser controlada; em alguns casos são formados com materiais que não se prestam à obtenção de membranas assimétricas. Suporte e filme podem ser preparados de polímeros diferentes podendo ser otimizados para aplicações específicas. A preparação mais sofisticada

destas membranas faz com que o custo delas seja maior que o das anteriormente descritas.

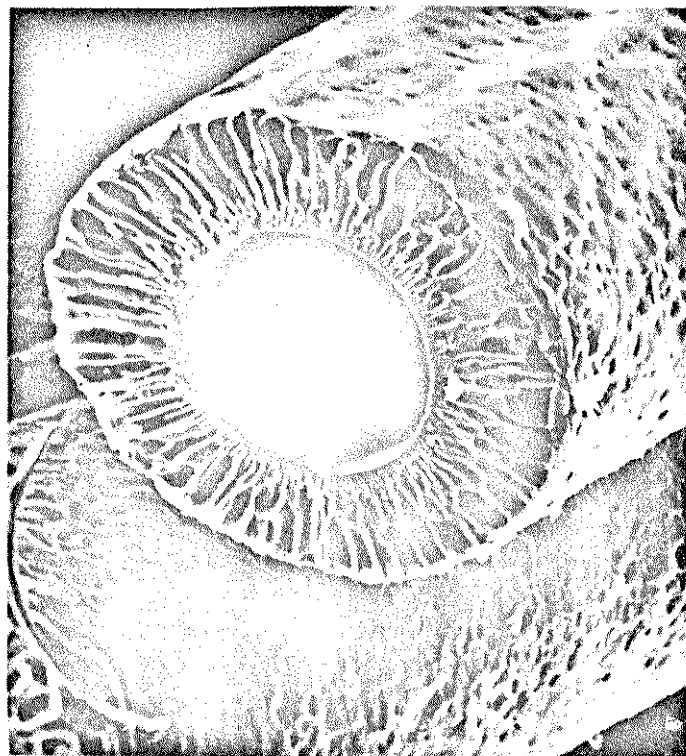


Figura 10. Micrografia de membrana assimétrica:

a: fibra oca, diâmetro interno 1.5 mm (63)

b: plana, de poliamida (63a)

I.4. OSMOSSEDIMENTAÇÃO:

O método de osmosedimentação consiste em se colocar a solução macromolecular em estudo numa célula de diálise, em contato com seu solvente, através de uma membrana semipermeável (permeável ao solvente e impermeável ao soluto). A célula de diálise é submetida à ação de um campo inercial: sob gravidade (osmossedimentação) ou em centrífuga (osmocentrifugação). O solvente atravessa a membrana para dentro ou para fora do compartimento da solução, dependendo da altura da coluna de solução (Figura 11). O transporte de solvente ocorre em direção à solução devido à pressão osmótica e o transporte em direção contrária ocorre em pontos onde a pressão exercida pela coluna de solução (mais densa que o solvente) causa a osmose reversa. Este processo de transferência de massa leva a que a sedimentação do soluto ocorra muito mais rapidamente dentro da célula de diálise do que em experimentos normais de sedimentação.

O método permite a realização de experimentos que eram, até recentemente, inviáveis. Por exemplo, utilizando membranas de acetato de celulose, altamente permeáveis ao solvente, o equilíbrio de sedimentação-difusão, pode ser alcançado em tempos muito mais curtos do que o necessário por sedimentação normal (74). Como o efeito é puramente cinético e não altera os gradientes de concentração de equilíbrio (75), foi possível determinar massas molares e outros parâmetros fisicoquímicos, tais como coeficientes de virial utilizando o tratamento teórico de equilíbrio, análogo ao aplicado em experimentos de sedimentação convencional, em ultracentrífugas (76).

A osmosedimentação é portanto um novo método de caracterização e fracionamento de solutos macromoleculares, que vem

apresentando um número crescente de aplicações:

- concentração de proteínas e polisacarídeos (77) em baixa velocidade de centrifugação;
- fracionamento de solutos macromoleculares (78,79)
- determinação de parâmetros físicoquímicos: massa molar, coeficiente virial (77,79).

Uma aplicação mais recente da osmocentrifugação é a geração de gradientes de densidade. A formação de gradientes de Percoll e Ficoll, e o bandeamento de hemáceas em gradiente de Percoll são obtidos de forma simples e rápida (10).

Transferência de massa na célula de osmocentrifugação.

Considerando uma solução ideal binária uniforme, o fluxo de água através da membrana é dado por:

$$J_{H_2O,x} = -K \Delta \mu_{H_2O,x}(r) \quad [14]$$

onde K : permeabilidade da membrana ao solvente

$\Delta \mu_{H_2O,x}$: diferença de potencial químico da água dos dois lados da membrana

$$\Delta \mu_{H_2O,x}(r) = R T \ln x_{H_2O} + \frac{1}{2} \bar{v}_{H_2O} \Delta \rho w^2 (r^2 - r_0^2) \quad [15]$$

com x: fração molar

\bar{v} : volume molar parcial

$\Delta \rho$: diferença de densidade entre soluto e solvente

w: velocidade angular do rotor

r_0, r : distância do eixo de rotação ao topo e ao fundo da coluna de solução dentro da célula.

O sinal de $\Delta\mu_{H_2O}$ indica o sentido do fluxo de água segundo a normal à membrana, como se ilustra na figura 11.

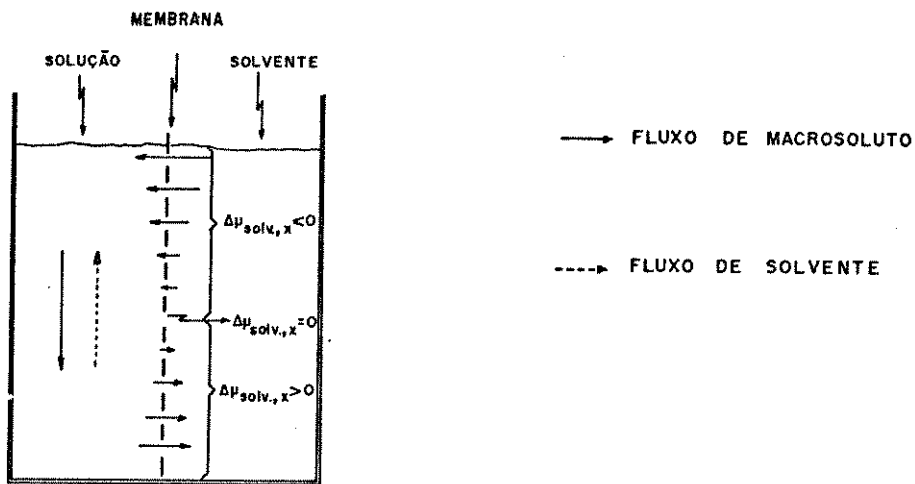


Figura 11. Esquema de uma célula de osmo-centrifugação.

1.5. ULTRAFILTRAÇÃO.

A ultrafiltração é um processo de filtração sob pressão (5-100 psi) de soluções de solutos macromoleculares ou coloidais, através de membranas semipermeáveis capazes de reter esses solutos (Figura 12).

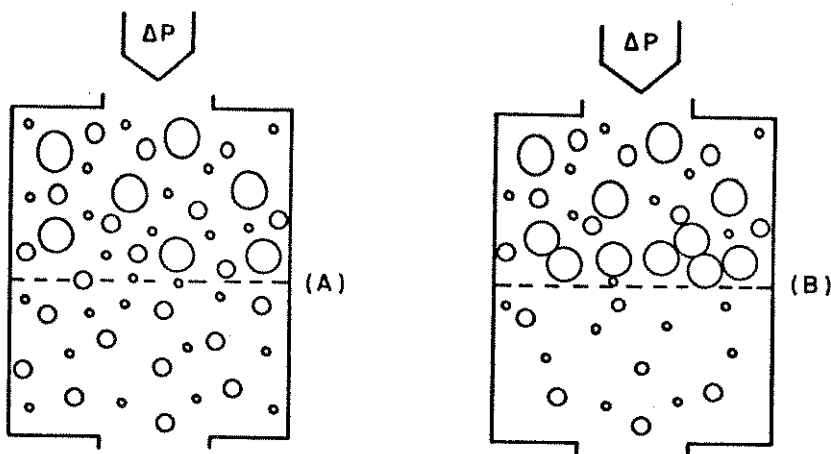


Figura 12. Representação esquemática do processo de ultrafiltração (A) e do efeito de polarização da concentração (B).

Há uma tendência das partículas e macromoléculas retidas pela membrana a formarem uma camada muito concentrada na superfície da membrana, fenômeno que se conhece como polarização da concentração (Figura 12 B). Esta camada estagnada atua como uma outra membrana, em série, que retarda o fluxo de ultrafiltrado.

Um modelo teórico para prever a polarização da concentração de solutos dissolvidos e seus efeitos no fluxo através da membrana considera que a concentração de soluto na superfície da membrana (C_s) é maior (pois é retido pela membrana) que na solução (C_b) (Figura 13). Um estado estacionário é alcançado quando o

transporte devido à difusão é igual ao transporte para a membrana devido a convecção:

$$J_w c - D \frac{dc}{dx} = 0 \quad [16]$$

onde J_w é o fluxo de água através da membrana

D é o coeficiente de difusão do soluto na solução

x é a coordenada perpendicular à superfície da mem-

brana

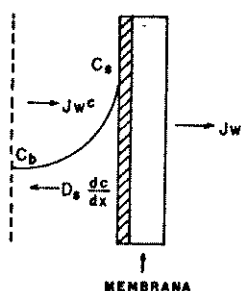


Figura 13. Modelo de polarização da concentração em ultrafiltração.

O módulo de polarização $C_s/C_b = \exp(J_w d/D)$ onde d é a espessura da camada estagnada, aumenta exponencialmente com o aumento da difusividade do soluto. Ou seja a polarização da concentração é mais acentuada com solutos macromoleculares e membranas altamente permeáveis (nas quais J_w seja elevado).

Na prática os ultrafiltros são construídos de maneira que este efeito seja minimizado, algumas maneiras de consegui-lo são: agitando a solução nas proximidades da membrana (80), fazendo circular a solução paralelamente à membrana em velocidade alta

(81), invertendo o fluxo através da membrana (82), aplicando campo elétrico no caso de solutos iônicos (83), etc. Basicamente são usados quatro desenhos de módulos: de membrana plana, em tubos, de fibras ocas e em espiral.

As aplicações industriais importantes de ultrafiltração são principalmente na área de biotecnologia, de controle de poluição e recuperação de certos componentes de efluentes industriais (67). Peças metálicas de carro, de aparelhos e móveis são pintadas por eletrodeposição da tinta (dispersão aquosa de uma resina na forma iônica, pigmentos e solventes orgânicos), onde o substrato é o ânodo (84). A tinta que não deposita neste processo é lavada e concentrada por ultrafiltração podendo ser reutilizada. Por ultrafiltração também é controlada a quantidade de água na tinta e são eliminados componentes de baixa massa molar (provenientes do pretratamento das peças, alcali liberado no cátodo, etc.).

A ultrafiltração é também usada em grande escala para quebrar emulsões óleo-água utilizadas em acabamentos metálicos, na indústria de petróleo, etc. O óleo concentrado é reutilizado ou queimado para evitar riscos de poluição.

Na recuperação de látexes poliméricos utilizados para encorpar papéis ou tecidos, a ultrafiltração é usada também para evitar poluição e permitir a recuperação de alguns compostos (85)

Outra aplicação importante é na separação e concentração de alimentos, produtos farmacêuticos e biológicos. Neste caso o processo de ultrafiltração apresenta a vantagem de que pode ser realizado a temperatura ambiente sem mudança de fase; compostos sensíveis, como enzimas, não sofrem denaturação (86).

Poli(álcool vinílico) é usado para encorpar linhas de costura. Como não é totalmente biodegradável e é mais caro que

amido, sua recuperação (feita por ultrafiltração) e reutilização constituem vantagens econômicas e ambientais.

Em escala de laboratório a ultrafiltração tem um grande número de aplicações na purificação, fracionamento, separação e concentração de compostos macromoleculares.

Ultrafiltração centrífuga

É possível realizar experiências de ultrafiltração em módulos que são carregados com a solução a ser filtrada e logo centrifugados (87) (Figura 14 A). A filtração ocorre devido à pressão exercida pelo próprio peso do líquido, desenvolvida durante a centrifugação. É muito conveniente para trabalho com volumes pequenos, mas permanecem os efeitos da polarização da concentração.

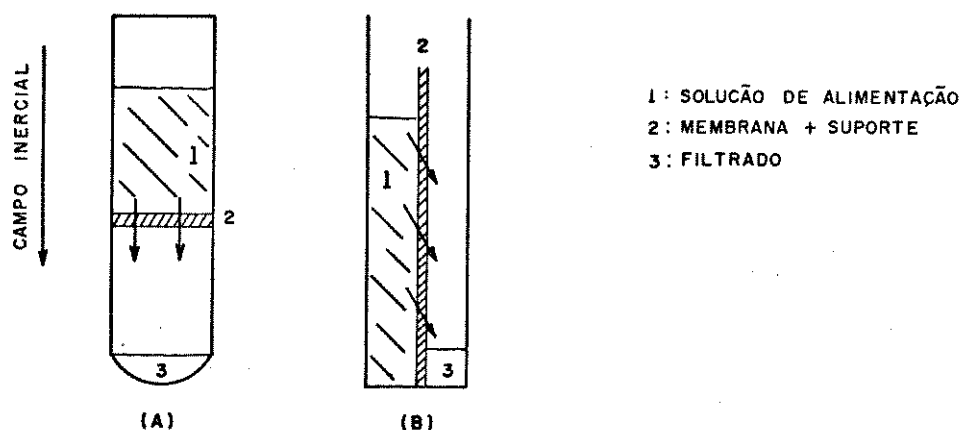


Figura 14. Arranjos experimentais de ultrafiltração em centrífuga com a membrana perpendicular (A) e paralela (B) ao campo centrífuga. As setas indicam o fluxo de líquido através da membrana.

Há aproximadamente três anos, começou a ser onsalada uma metodologia de ultrafiltração em centrífuga, usando módulos onde a membrana se encontra paralela ao campo centrífugo (Figura 14 B). Isto com o objetivo de verificar se desta forma se obteriam resultados interessantes no sentido de conseguir despolarização da concentração, uma vez que se espera que o soluto acumulado em regiões contiguas à membrana seria transferido para o fundo da célula, por correntes de convecção.

Com soluções aquosas de proteínas foi observado que a polarização da concentração é desprezível, conforme a descrição teórica desenvolvida para este tipo de experimentos (88). Comparando com ultrafiltração convencional sem agitação, verifica-se que além da membrana apresentar um comportamento constante durante a filtração, a retenção para um dado soluto é maior em ultrafiltração centrífuga.

VI. OBJETIVOS DESTA TESE

Os objetivos desta tese são os seguintes:

- Obtenção de gradientes de densidade de soluções macromoleculares, de diferentes características, por osmocentrifugação e ultrafiltração centrífuga.
- Verificação da aplicabilidade de técnicas de separação em gradientes de densidade ao fracionamento de dispersões poliméricas complexas.
- Obtenção de membranas sintéticas adequadas para uso em meios não-aquosos, para a ampliação da aplicabilidade das técnicas de osmocentrifugação e ultrafiltração ao estudo de polímeros sintéticos
- Aplicação da técnica de ultrafiltração centrífuga na concentração de sistemas macromoleculares em solventes orgânicos.

II. CENTRIFUGAÇÃO EM GRADIENTE DE DENSIDADE:

II.1. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

- Reagentes:
- Percoll, Pharmacia Fine Chemicals (Nº 17891-01, Lot HI 26238)
 - Ficoll, Pharmacia Fine Chemicals (Nº 17-0400, Lot HC 24638)
 - Marcadores de densidade para calibração de gradientes de Percoll, Pharmacia Fine Chemicals (Code Nº 17-0459-01)
 - óxido de titânio, Riodel
 - Sacarose P.A., Reagen
 - Látex de poliestireno, Sigma Lot B7C-0187
 - Dodecilsulfato de sódio, Fisher Scientific Company -S-329 lot 785498

Látexes comerciais:

- Tonaz-Super Cola, Orniex S.A.
- Ponal-Especial, Henkel S.A. Industrias Químicas
- Polar-Cola Plástica
- Polyfix-Cola Branca, Pulvitec S.A. Ind. e Com.
- Massaplic Assentamento, Pulvitec S.A. Ind. e Com.
- Tinta acetinada 911-branco, Tintas Ypiranga Ltda.
- Kivinil Latex Branco, Soc. Eletro-Química Selqui Ltda.

Células utilizadas nos experimentos de osmocontrifugação:

- Células de diálise feitas em poliéster reforçado com fibra de vidro (Figura 15)
- Células de diálise feitas em acrílico (Figura 16)

Estas células são formadas por duas placas (de acrílico ou poliéster reforçado com fibra de vidro) escavadas, justapostas com a membrana semipermeável e o suporte (placa porosa de níquel), que divide a célula em dois compartimentos.

Equipamentos:

- Centrífuga refrigerada de caçapas basculantes, RC-3B Sorvall Instruments
- Refratômetro de Abbe, Bausch & Lomb
- Espectrofotômetro Infravermelho, Shimadzu IR 408
- Espectrofotômetro Infravermelho, Zeiss M 80
- Espectrofotômetro Infravermelho, Perkin Elmer 399B
- Espectrofotômetro NMR, Bruker AW-80
- Bomba peristáltica, Milan Equipamentos Científicos Ltda
- Câmara fotográfica, Miranda SLR
- Espectrofotômetro UV-Visível, B-382, Micronal

II.1.1.1. Obtenção de gradientes de densidade por osmocontrifugação e ultrafiltração centrífuga.

Nestas experiências foram utilizadas células de poliéster reforçado com fibra de vidro, tendo cada compartimento capacidade de 4-5 ml (Figura 15). Os formadores de gradiente de densidade utilizados foram: Percoll, Ficoll e mistura de Ficoll e sacarose. Nas experiências de osmocontrifugação a solução é colo-

cada em um compartimento da célula e o solvente no outro compartimento; a célula é colocada na centrífuga e centrifugada nas condições de tempo, velocidade e temperatura desejadas. Em ultrafiltração centrífuga a célula é carregada com solução em um compartimento, enquanto o outro é deixado inicialmente vazio. A célula é centrifugada e uma vez decorrido o tempo de centrifugação desejado, a centrífuga é parada, a célula removida e desta são retiradas alíquotas com seringa, ao longo do compartimento da solução; mede-se os índices de refração de cada alíquota e calcula-se a sua densidade usando os dados das curvas de calibração (índice de refração \times densidade). Os dados de densidade (ρ) são obtidos das medidas de índice de refração (n) usando a equação $\rho = n - b/a$, onde a e b são a inclinação e o coeficiente de posição da curva de calibração respectivamente, vide Tabela IV. As características de gradientes obtidos em diferentes condições de tempo e velocidade de rotação se encontram nas figuras 17 e 18 e na Tabela V.

Tabela IV. Valores das constantes para o cálculo de densidade de soluções de Percoll e Ficoll, obtidas das curvas de calibração ($T=25^{\circ}\text{C}$) de densidade versus índice de refração.

Formador de gradiente	a	b	erro na densidade * em g/cm^3
Percoll	0,147	1,186	0,004
Ficoll	0,426	0,908	0,002
Ficoll-22% Sacarose	0,465	0,860	0,003

* Calculada considerando $\Delta\rho = 0,00001$; $\Delta n = 0,0001$;

$\Delta a = 0,0009-0,0003$; $\Delta b = 0,002$.

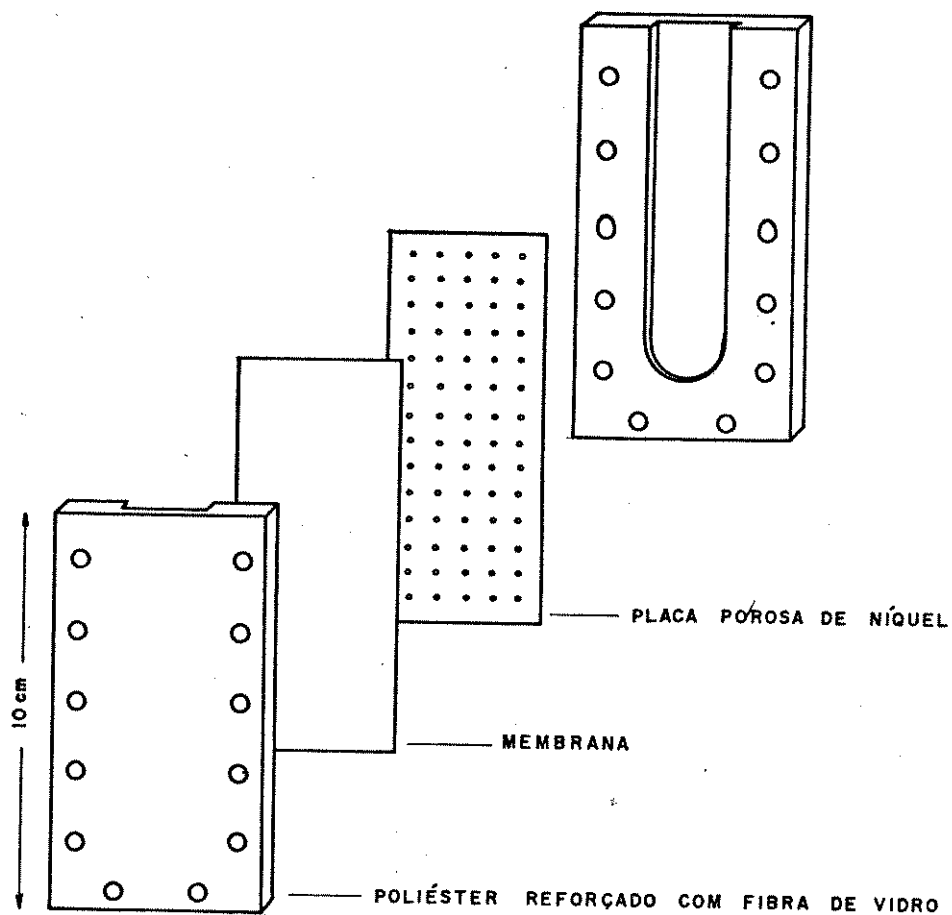


Figura 15. Representação esquemática das células de diálise, feitas em poliéster reforçado com fibra de vidro, utilizadas em experimentos de osmocontrifugação.

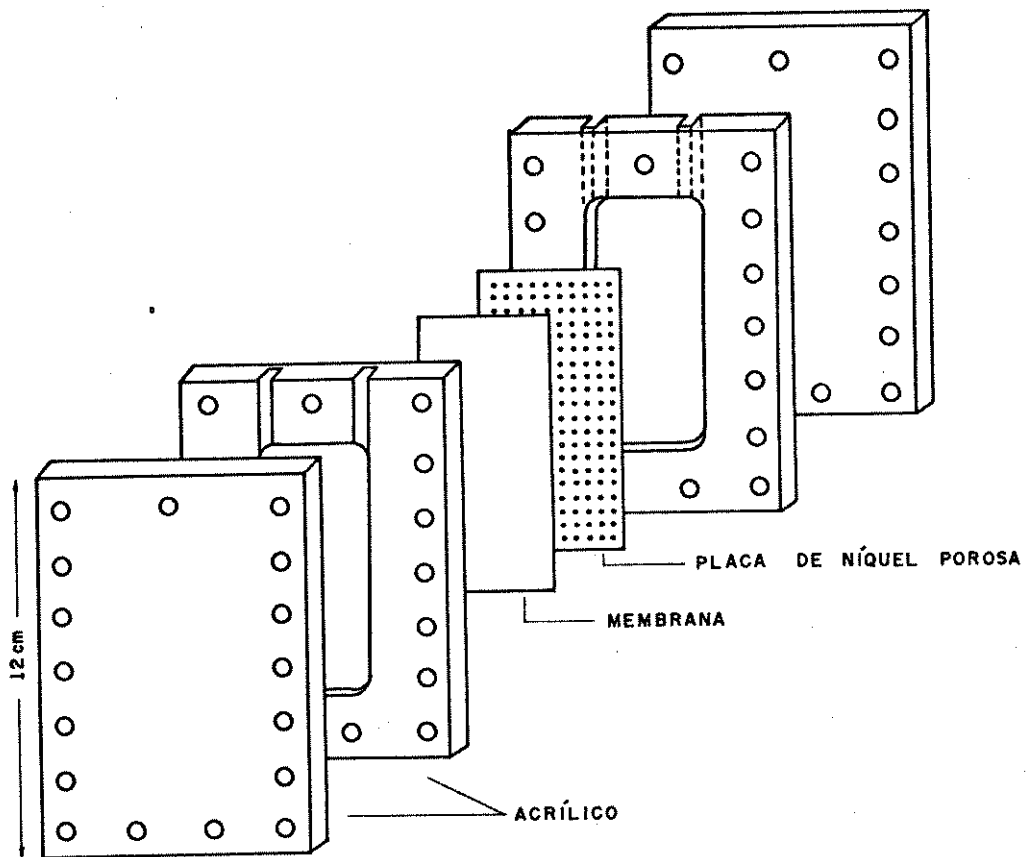


Figura 16. Representação esquemática das células de diálise, feitas em acrílico, utilizadas em experimentos de osmocentrifugação.

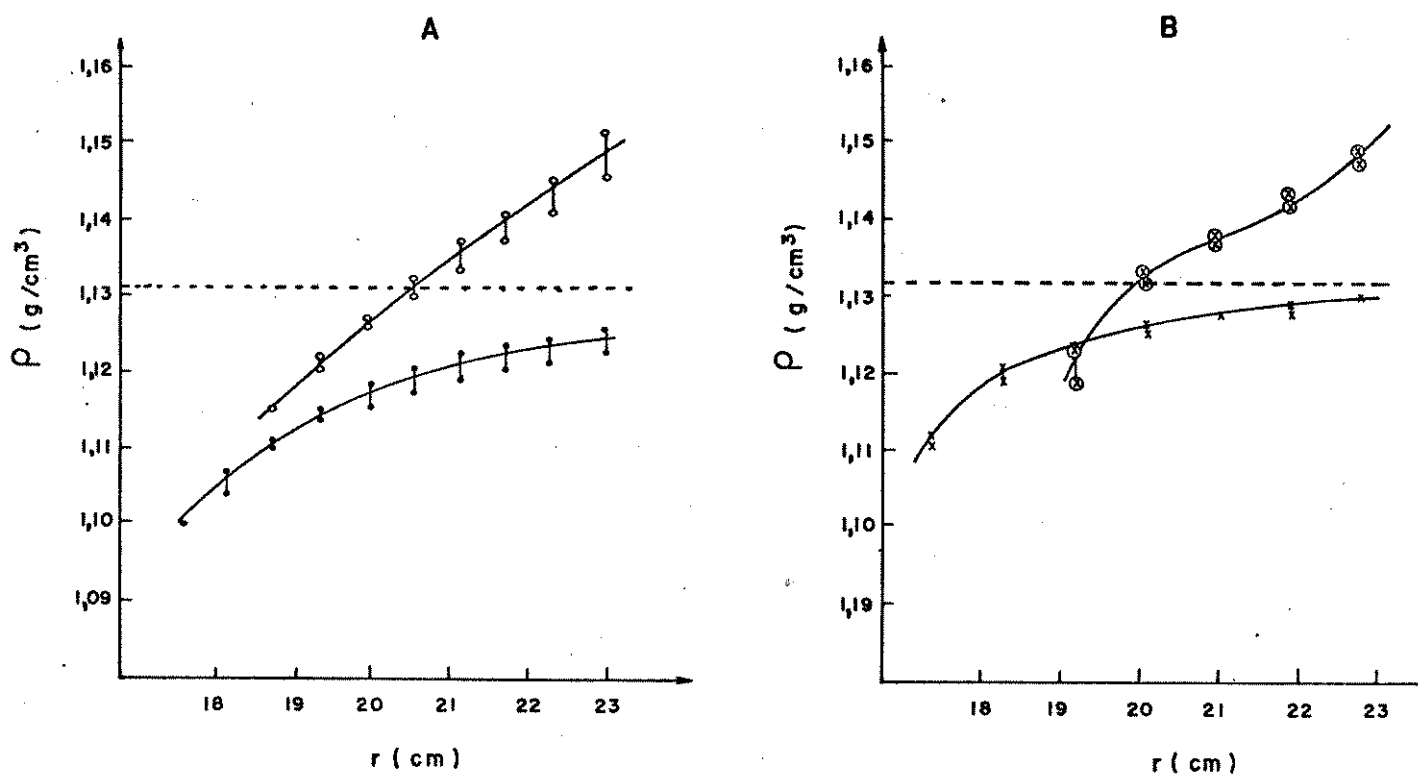


Figura 17. Gradientes de densidade de solução de Ficoll 10% e sacarose 22% (70 min, 2000 rpm): (A) e Ficoll 11% e sacarose 22% (140 min, 2000 rpm): (B), obtidos por osmo-centrifugação (x, ●) e por ultrafiltração centrífuga (⊙, ⊚) a 20°C.

----- indica a densidade da solução de partida.

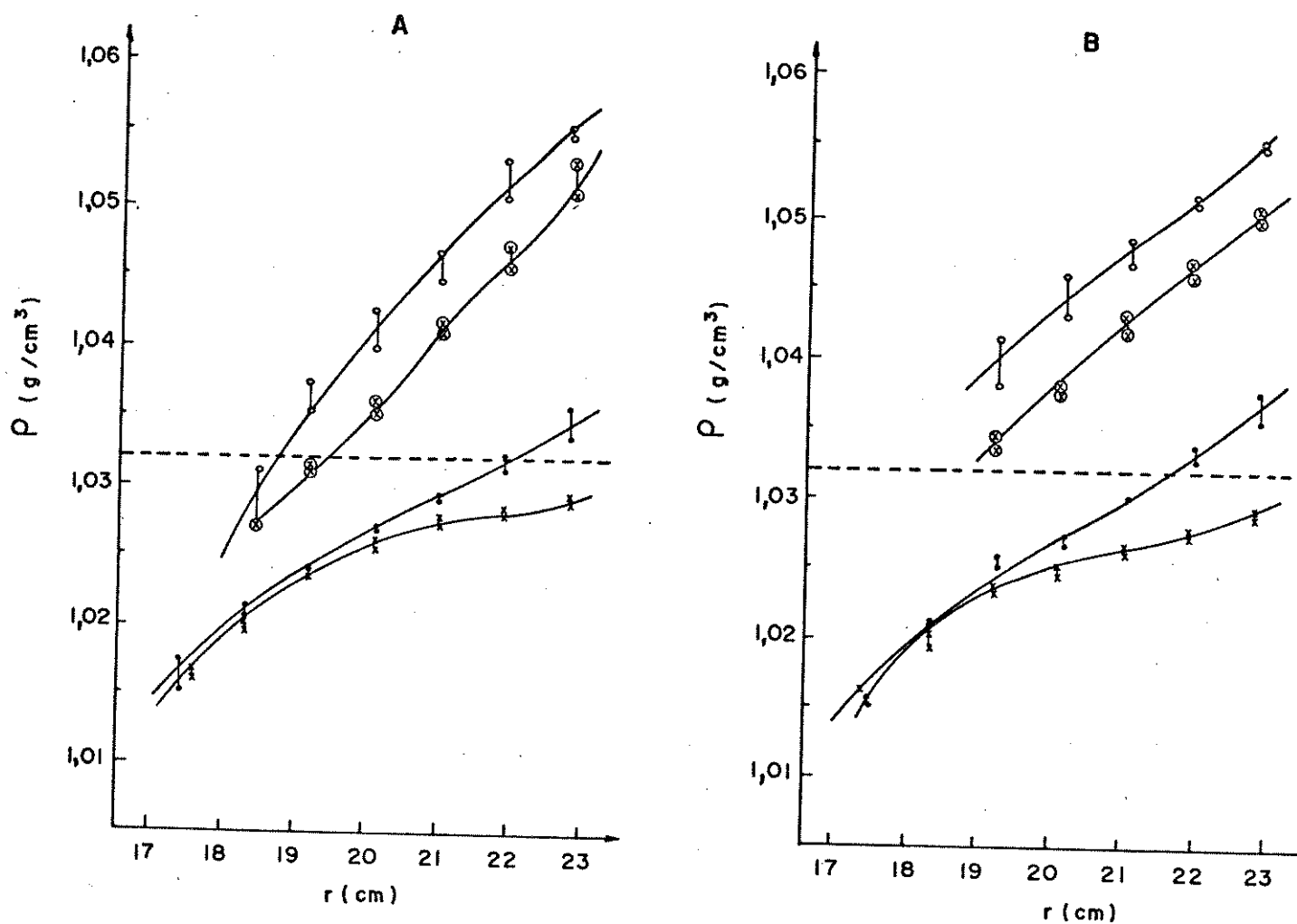


Figura 1B. Gradientes de densidade de Ficoll ($\rho = 1,032 \text{ g/cm}^3$, 11% w/v) obtidos por osmocentrifugação (x, ●) e por ultrafiltração centrífuga (⊙, ⊚) a 20°C.

A: 60 min, 2000 rpm (●, ⊙) ; 60 min, 1000 rpm (x, ⊚)

B: 120 min, 2000 rpm (●, ⊙) ; 120 min, 1000 rpm (x, ⊚)

----- corresponde à densidade da solução de partida.

Tabela V. Características de gradientes de densidade de Percoll, Ficoll e Ficoll-22% sacarose, gerados por osmocentrifugação (*) e ultracentrifugação centrífuga (**) a 20°C. (Os valores de densidade correspondem a 25°C).

Solução (densidade)	Condições t(min)/w(rpm)	$\Delta\rho$ (g/cm ³)	$\Delta\rho/\Delta r \cdot 10^3$ (a) (g/cm ⁴)	
Percoll (1,120 g/cm ³)	15 / 1000	1,07- 1,17	8,0	*
	15 / 1500	1,06- 1,16	15,0	*
	20 / 2500	1,02- 1,19	30,0	*
	120 / 2500	1,00- 1,25	70,0	*
Ficoll (1,032 g/cm ³)	60 / 1000	1,016-1,029	2,0	*
		1,030-1,053	6,5	**
	60 / 2000	1,016-1,035	3,0	*
		1,030-1,056	5,1	**
	120 / 1000	1,017-1,029	1,5	*
		1,033-1,051	4,6	**
	120 / 2000	1,016-1,037	3,5	*
		1,039-1,056	3,9	**
Ficoll/sacarose (1,131 g/cm ³) (1,132 g/cm ³)	70 / 2000	1,103-1,124	3,3	*
		1,115-1,148	6,7	**
	140 / 2000	1,113-1,129	2,0	*
		1,122-1,148	5,0	**

(a) à meia altura da coluna líquida

II.1.2. Verificação de atingimento de equilíbrio isopícnico.

Neste experimento foi utilizado um látex de poli(acetato de vinila) comercial (que será aqui denotado por (1)), do qual foram retiradas as partículas de menor tamanho da seguinte maneira: 25 ml do látex original foram diluídos com 75 ml de solução 0,25% (w/v) de dodecilsulfato de sódio (SDS) e centrifugado seis vezes por 8 min a 2000 rpm. Após cada centrifugação foi descartado o líquido sobrenadante (aproximadamente 75% da coluna líquida que contém as partículas mais finas); o sedimento foi recolhido e teve seu volume completado até 100 ml com a solução de SDS. O conteúdo de sólidos nesta dispersão, determinado por gravimetria foi de 8% w/w.

O sistema formador de gradiente de densidade usado foi Percoll ($\rho = 1,123 \text{ g/cm}^3$) contendo 0,1% de SDS, para evitar a coagulação do látex.

II.1.2.1. Em experimentos de osmocentrifugação.

Foi gerado um gradiente por osmocontrifugação (30 min, 2000 rpm, 20°C) sobre o qual foi colocada uma alíquota de 0,2 ml do látex de PVA; a célula foi novamente centrifugada por 30 min a 2000 rpm. Foram retiradas seis frações ao longo da coluna do gradiente de densidade (identificadas com os números de 1 a 6 na figura 19) e medidos o índice de refração e o espalhamento a 400 nm de cada uma. O gradiente de densidade e a distribuição de partículas obtido se encontram na figura 20 A. Para verificar se o sistema se encontra no equilíbrio isopícnico foram gerados novos gradientes em duas células (nas mesmas condições que o primeiro) sobre os quais foram colocados, em uma célula a fração 4 e na outra a fração 5. Logo as células foram centrifugadas e determinados o gradiente e a distribuição de partículas. Os resultados se

encontram na figura 20 B e C. Observamos que a posição da banda principal em relação a densidade coincide nos tres casos. Concluímos que as partículas das frações 4 e 5 na experiência A não se encontram no equilíbrio isopícnico pois não reproduzem suas posições (em relação a densidade) em gradientes diferentes.

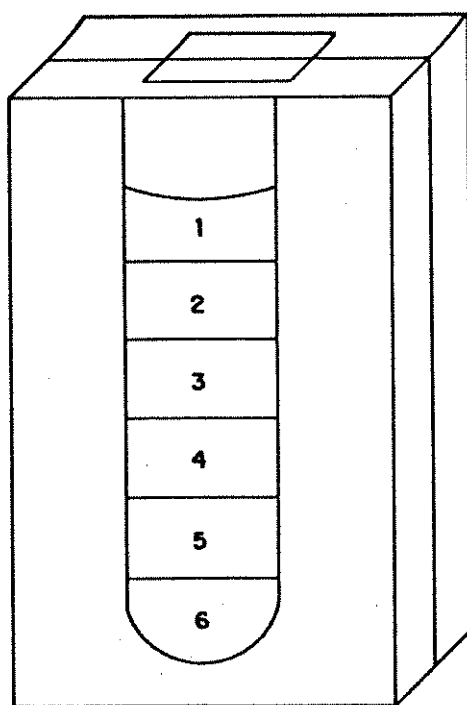


Figura 19. Esquema da célula contendo o gradiente de densidade e o látex de PVA da experiência A, com a identificação das frações.

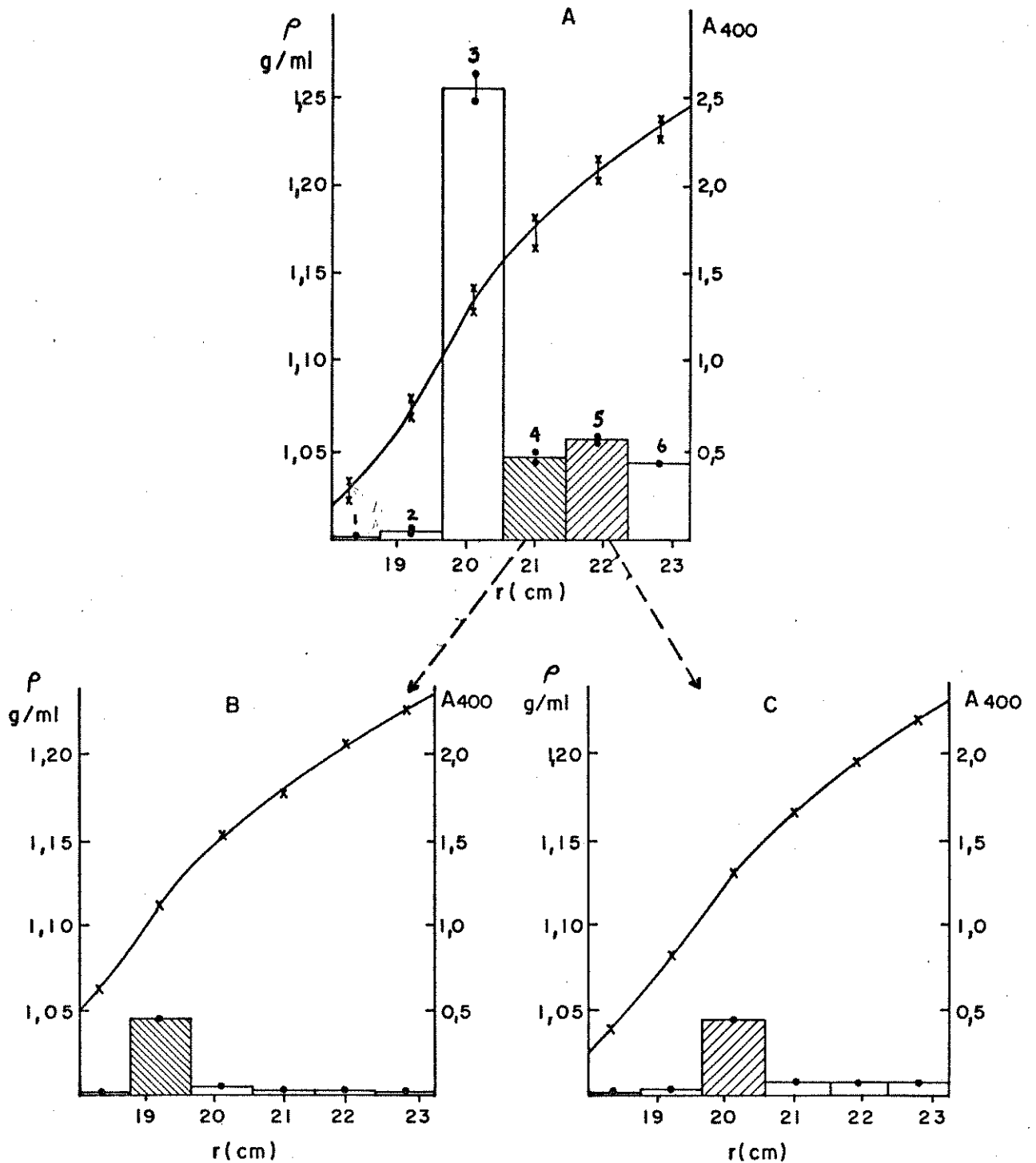


Figura 20. Distribuição de partículas do látex de PVA (●) em gradientes de densidade de Percoll (x), obtidos por osmocentrifugação a 20°C. Formação do gradiente: 30 min, 2000 rpm. Centrifugação zonal: 30 min, 2000 rpm. (A) látex de PVA, (B) recentrifugação da fração 4, (C) recentrifugação da fração 5.

II.1.2.2. Em experimentos de centrifugação em tubo de vidro.

Foi então estudada a possibilidade de transferir o gradiente de densidade (previamente gerado por osmocentrifugação) para um tubo de vidro, ao qual seria adicionada uma alíquota de látex, então submetida a centrifugação zonal.

1. Em um experimento deste tipo, o gradiente foi gerado usando-se a mesma solução de Percoll usada anteriormente, nas mesmas condições por osmocentrifugação (30 min, 2000 rpm, 20°C); este gradiente foi transferido para um tubo de centrifugação, usando-se uma bomba peristáltica; foi então aplicada uma banda de látex de PVA, juntamente com quatro marcadores de densidade, sobre o gradiente. As posições da banda de látex e dos marcadores foram acompanhadas em diferentes tempos de centrifugação a 2000 rpm. Foi observado que não há variação na posição das bandas entre

Tabela VI. Centrifugação zonal de látex de PVA e marcadores de densidade em diferentes tempos de centrifugação a 2000 rpm; em gradiente gerado por osmocentrifugação (30 min, 2000 rpm).

Tempo de centrifugação	Distâncias do fundo do tubo (cm) \pm 0,05					
	5 min	10 min	20 min	40 min	80 min	15,0 hrs.
Menisco	4,40	4,40	4,40	4,40	4,40	4,20
DMB-5 (azul)	4,30	4,25	4,25	4,25	4,25	3,90
DMB-7 (verde)	3,45	3,45	3,45	3,45	3,45	3,50
DMB-8 (vermelho)	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10
DMB-9 (violota)	2,95	2,95	2,95	2,95	2,95	2,95
Látex de PVA	2,70- 3,10	2,65- 2,95	2,65- 2,95	2,65- 2,95	2,65- 2,95	2,60- 2,90

10 e 30 min de centrifugação (Tabela VI). Houve evaporação de água entre os 80 min e as 15 horas, evidenciada pela mudança na posição do menisco e do marcador de menor densidade, DMB-5 (azul). Estes resultados mostram que o equilíbrio isopícnico com este sistema é atingido em 10 min de centrifugação, a 2000 rpm.

11. Foram gerados gradientes de densidade de Percoll por osmocentrifugação em diferentes condições, transferidos para tubos e aplicada uma banda de 0,2 ml do látex de PVA sobre cada gradiente. Logo estes tubos foram centrifugados por 2,5 horas a 2000 rpm. A distribuição de partículas e o gradiente de densidade foram determinados em cada caso. Os resultados (Tabela VII e Figura 21) mostram que quanto mais acentuado é o gradiente mais estreita é a banda de partículas, o que deve acontecer se o equilíbrio isopícnico é atingido.

Tabela VII. Centrifugação zonal de partículas de látex de PVA em gradientes de Percoll, gerados por osmocentrifugação (2,5 hrs, 2000 rpm, 20°C).

Experiência	Condições de formação do gradiente	$\Delta\rho/\Delta r \cdot 10^3$ (g/cm ⁴)	Largura da banda (cm) \pm 0,1
I	15 min/1000 rpm	9	1,9
II	15 min/1000 rpm	10	1,7
III	30 min/1000 rpm	22	0,9
IV	30 min/2000 rpm	36	0,4
V	30 min/2000 rpm	65	0,3

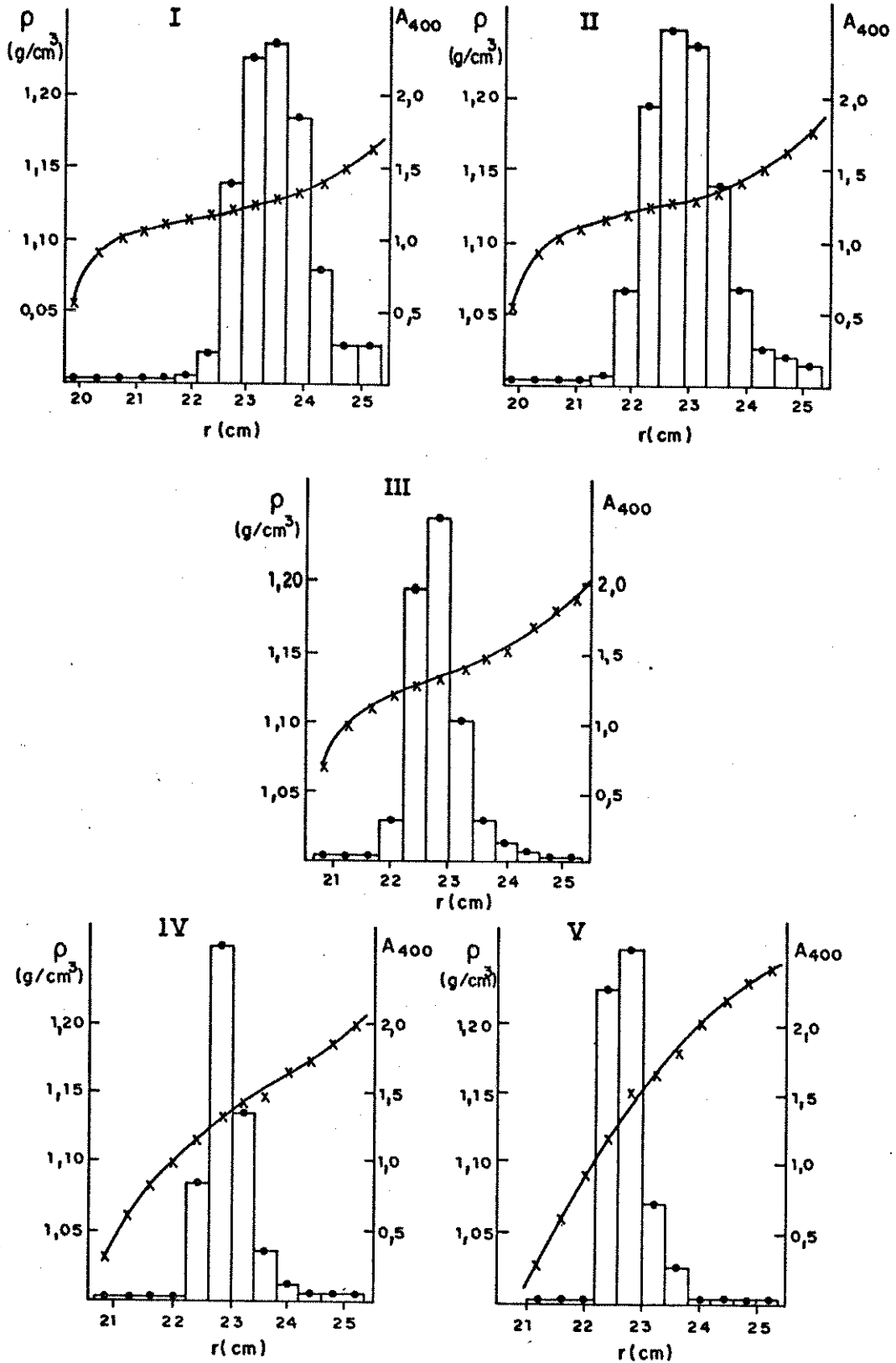


Figura 21. Distribuição de partículas de látex de PVA (●) obtidos por centrifugação durante 2,5 horas a 2000 rpm em gradientes de densidade de Percoll (x) formados por osmocentrifugação a 20°C: I: 15 min/1000 rpm; II: 15 min/1000 rpm; III: 30 min/1000 rpm; IV: 30 min/2000 rpm; V: 30 min/2000 rpm.

III. Foi feita ainda uma experiência de centrifugação zonal com frações do látex de PVA retiradas de posições diferentes, depois de atingido o equilíbrio isopícnico. Dois gradientes foram gerados por osmocentrifugação (15 min, 1000 rpm, 20 C) e transferidos para os tubos A e B da figura 22. No tubo A foi aplicada uma alíquota de 0,25 ml do látex de PVA, centrifugada por 2,5 hrs a 2000 rpm, obtendo-se a banda da figura 22 A. Foram retiradas alíquotas ao longo deste gradiente segundo as marcas no tubo, colhendo-se quatro frações da banda de látex. Duas destas frações (superior e inferior, F8 e F11 respectivamente) foram aplicadas ao segundo gradiente e centrifugadas também por 2,5 hrs a 2000 rpm; foram então obtidas duas bandas (Figura 22 B). Com o gradiente obtido em cada tubo e a posição das bandas, foi construído o gráfico da figura 23 e foram determinadas as faixas de densidade que elas apresentam em cada caso (Tabela VIII). Observamos que a densidade das frações é a mesma, nos dois casos. Podemos portanto afirmar que o sistema nessas condições atinge o equilíbrio isopícnico e que as partículas dessa amostra de látex de PVA tem uma distribuição contínua de densidade entre $1,12$ e $1,14 \text{ g/cm}^3$.

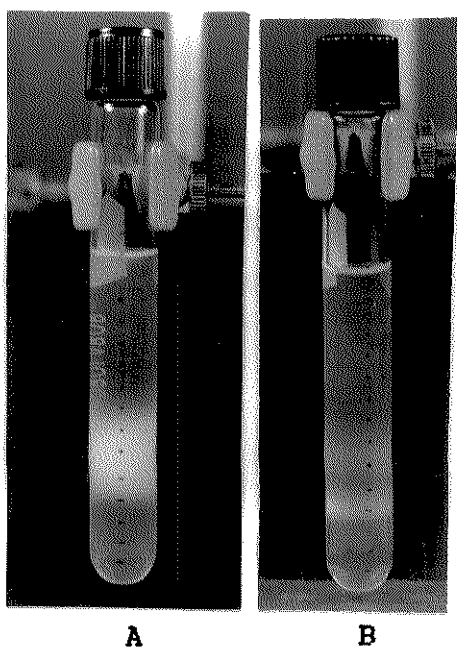


Figura 22. Centrifugação zonal de partículas de PVA em gradientes de Percoll. A: látex de PVA; B: frações superior e inferior da banda obtida em A.

Tabela VIII. Faixas de densidade e distâncias do centro do rotor a duas frações da banda de látex de PVA (obtida no experimento da figura 22) em gradientes de Percoll.

Formação dos gradientes: osmocentrifugação, 15 min, 1000 rpm, 20°C.

Centrifugação zonal: 2,5 horas, 2000 rpm, 20°C.

Experimento A: látex de PVA

Experimento B: frações superior e inferior da banda obtida em A.

Fração de PVA	Experimento A		Experimento B	
	$\Delta r \pm 0,05$ (cm)	$\Delta \rho$ (g/cm ³)	$\Delta r \pm 0,05$ (cm)	$\Delta \rho$ (g/cm ³)
F8	22,1 - 22,5	1,125-1,131	22,5 - 23,3	1,125-1,132
F11	23,3 - 23,7	1,135-1,138	23,5 - 23,9	1,134-1,139

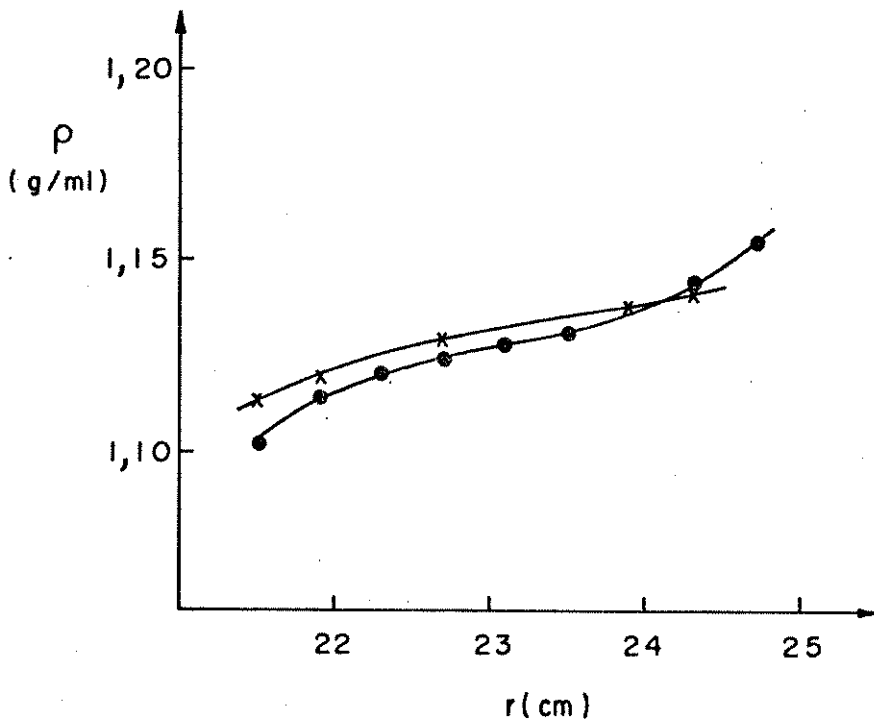


Figura 23. Gradientes de densidade correspondentes às duas experiências da figura 22 e Tabela VIII: A-(x), B-(•).

II.1.3. Fracionamento de partículas.

Nestes experimentos, foram utilizadas células de acrílico, com capacidade de 16 a 18 ml em cada compartimento (Figura 16), para gerar os gradientes de densidade por osmocentrifugação. Como sistema formador de gradiente de densidade foi usado Percoll de densidade $1,123 \text{ g/cm}^3$, contendo 0,1% de SDS. Para experiências de fracionamento foram escolhidos tres adesivos a base de látex de PVA, que por razões de ética serão aqui denotados por (1), (2) e (3). Foram preparadas amostras 8 ml de água e 0,01 g de SDS a 5 g de cada adesivo. O conteúdo de sólidos nas dispersões foi: (1) 14%, (2) 11% e (3) 14% w/w.

Foram gerados gradientes de densidade por osmocentrifugação (10 min, 1000 rpm, 20°C), e transferidos para tubos de vidro com bomba peristáltica. Em cada tubo, sobre o gradiente foi adicionado 1 ml de amostra de látex e o tubo foi centrifugado por 18 horas a 1500 rpm condições em que o equilíbrio isopícnico é atingido. A distribuição de partículas ao longo do gradiente é diferente nos tres casos, como se observa na figura 24. O PVA do adesivo (1) forma uma banda bem concentrada, trata-se de um material de distribuição contínua de densidade. No caso da amostra (2) a banda apresenta duas descontinuidades. A faixa de densidade do PVA do adesivo (3) é muito larga e a banda apresenta duas descontinuidades. Este experimento foi repetido 3 vezes, obtendo-se reprodutibilidade em relação à densidade.



Figura 24. Centrifugação zonal de látexes de PVA (adesivos (1), (2) e (3)) em gradientes de densidade de Percoll.

De cada tubo foram recolhidas as frações indicadas na figura 26, de cada fração foi medido o índice de refração, sendo calculadas as densidades correspondentes. Dos gráficos de densidade versus posição no tubo (Figura 25) é possível determinar a faixa de densidade das partículas de PVA de cada adesivo, (1): 1,073-1,103, (2): 1,093-1,109 e (3): 1,053-1,137 g/cm^3 . Estes valores correspondem à média de duas determinações, $\Delta\rho(\text{máx.})=0,006 \text{ g/cm}^3$. A pesar do adesivo (1) apresentar uma banda mais estreita que (2) (Figura 24) a sua faixa de densidade é maior que a do adesivo (2).

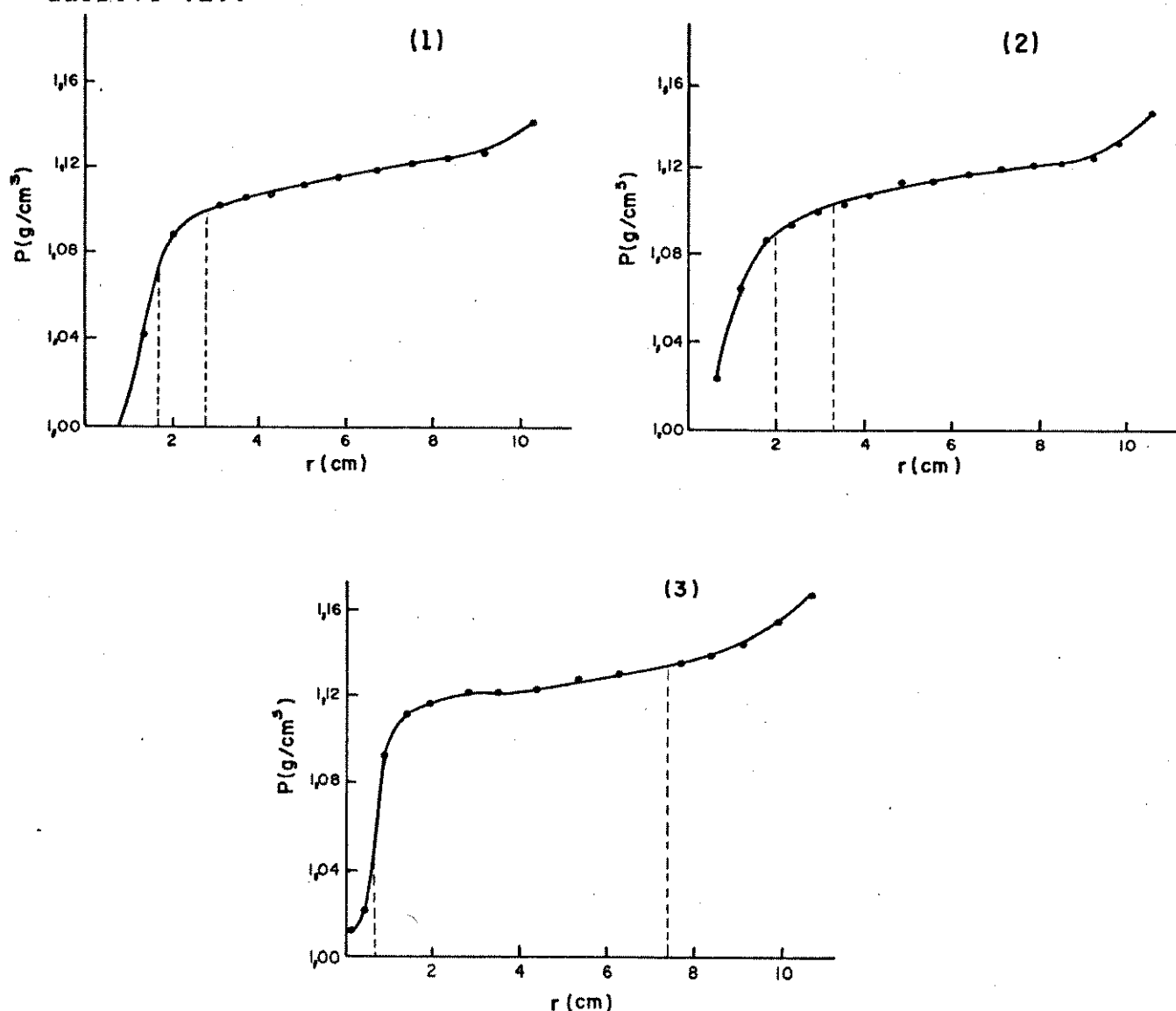


Figura 25. Gradientes de densidade de Percoll (•) e posição das bandas de partículas de PVA dos adesivos (1), (2) e (3), obtidos em experimento isopícnico.

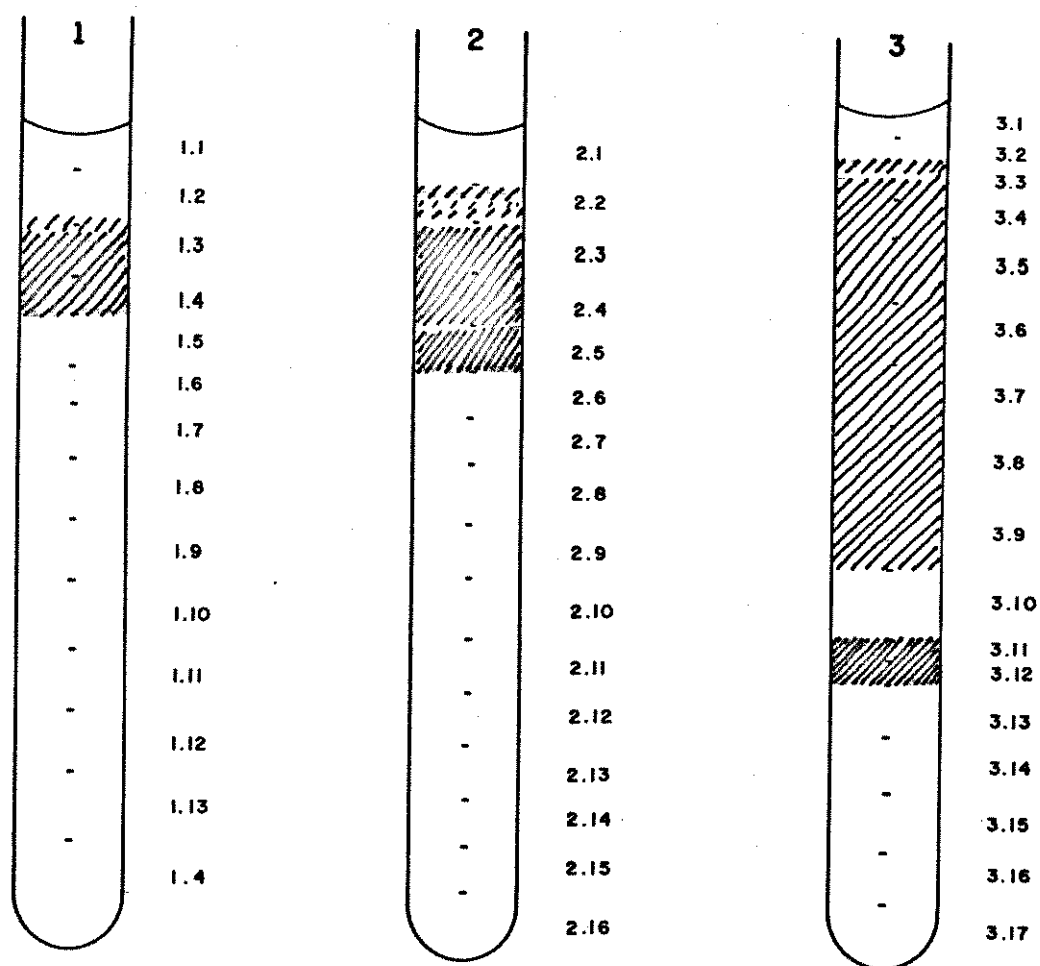


Figura 26. Identificação das frações dos gradientes de densidade obtidas no fracionamento de látexes de PVA dos adesivos (1), (2) e (3).

O PVA de frações diferentes de cada adesivo foi extraído com tolueno, sendo preparados filmes para análise por espectrofotometria no infravermelho. Os espectros se encontram nas figuras 27 a 29. Nestes espectros não há diferenças que mostrem alguma correlação definida com as variações de densidade. Em alguns espectros pode ser observada uma banda em 1070 cm^{-1} e alguma alteração na razão das intensidades das bandas de $2900\text{ - }3000\text{ cm}^{-1}$.

Das frações do adesivo (3) foram também feitos espectros NMR de próton usando CCl_4 como solvente e CHCl_3 como composto de referência (ver figura 30). Os prótons metílicos do grupo acetoxi no PVA são sensíveis à configuração estereoquímica (89). São observados tres picos cuja atribuição é a seguinte (90): 2,02 ppm: isotático (i); 2,00 ppm: atático (a); 1,98 ppm: sindiotático (s).

Os espectros obtidos das diferentes frações não permitem uma avaliação precisa das quantidades relativas de cada componente a partir das áreas, devido a que a resolução não é suficiente, mas foi feita uma estimativa dessas quantidades a partir das alturas dos picos em 1,98, 2,00 e 2,02 ppm. Este cálculo foi feito considerando a soma das tres alturas como 100%, os resultados se encontram na Tabela IX. Observamos que entre as duas frações de menor densidade (5-7 e 8-10) não há variação quanto ao teor de polímero isotático, mas este é maior nas frações de maior densidade (11 e 12).

Uma diferença bem clara entre os espectros das frações 11 e 12 são o triplete em 1,1 ppm e o quarteto em 3,6 ppm que aparecem no espectro da fração 12 mas não aparecem nos espectros de nenhuma das outras frações, e estão presentes na amostra original. No caso da fração 12 o triplete em 1,1 ppm está superposto com tres bandas que aparecem no espectro do solvente (obtido com acumulação de 26 espectros), estas só aparecem na fração 12 pois

Tabela IX. Quantidades relativas de polímero isotático, atático e sindiotático, em frações de PVA (de adesivo (1)) separadas por centrifugação em gradiente de densidade.

Taticidade	Amostra original	Frações 5,6 e 7	Frações 8,9 e 10	Fração 11	Fração 12
i	37	37	37	40	40
a	42	42	42	42	40
s	21	21	21	18	20

para sua obtenção foi necessário fazer acumulação de 12 espectros muito superior que com as outras amostras. A posição e multiplicidade desses sinais mostram que se trata de um grupo $\text{-OCH}_2\text{CH}_3$. É mais provável que esse grupo etoxila se encontre fazendo parte da cadeia polimérica do PVA pois no caso de tratar-se de um composto de baixo peso molecular deveria observar-se uma distribuição nas diferentes frações, o que não acontece. De outro lado como composto de baixo peso molecular seria eliminado na etapa de secagem da fração.

A informação que existe na literatura sobre preparação de PVA em emulsão e de formulação de adesivos (91) não permite explicar o aparecimento desse grupo nem se pode afirmar se ele existe neste adesivo propositalmente ou acidentalmente.

A possibilidade de tratarse de acrilato de etila, que é usado como plastificante interno de PVA, foi descartada pois em tal caso o quarteto devia aparecer acima de 4,0 ppm.

Há também outros sinais que não correspondem a PVA (0,90, 1,25, 1,45 e 2,35 ppm). Na fabricação de PVA obtém-se polímero ramificado, devido a reações de transferência (91), em tal

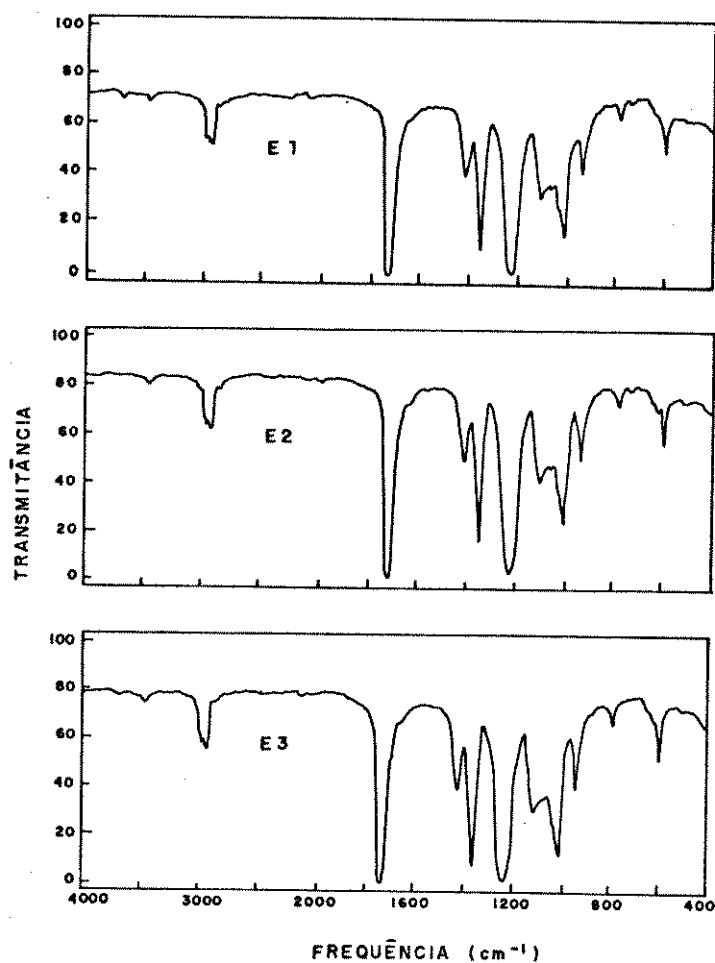


Figura 27. Espectros infravermelhos de frações de látex de PVA do adesivo (1) separadas por centrifugação zonal em gradiente de Percoll. E1: fração 1.2; E2: fração 1.3; E3: fração 1.4. (As frações se encontram identificadas na figura 26).

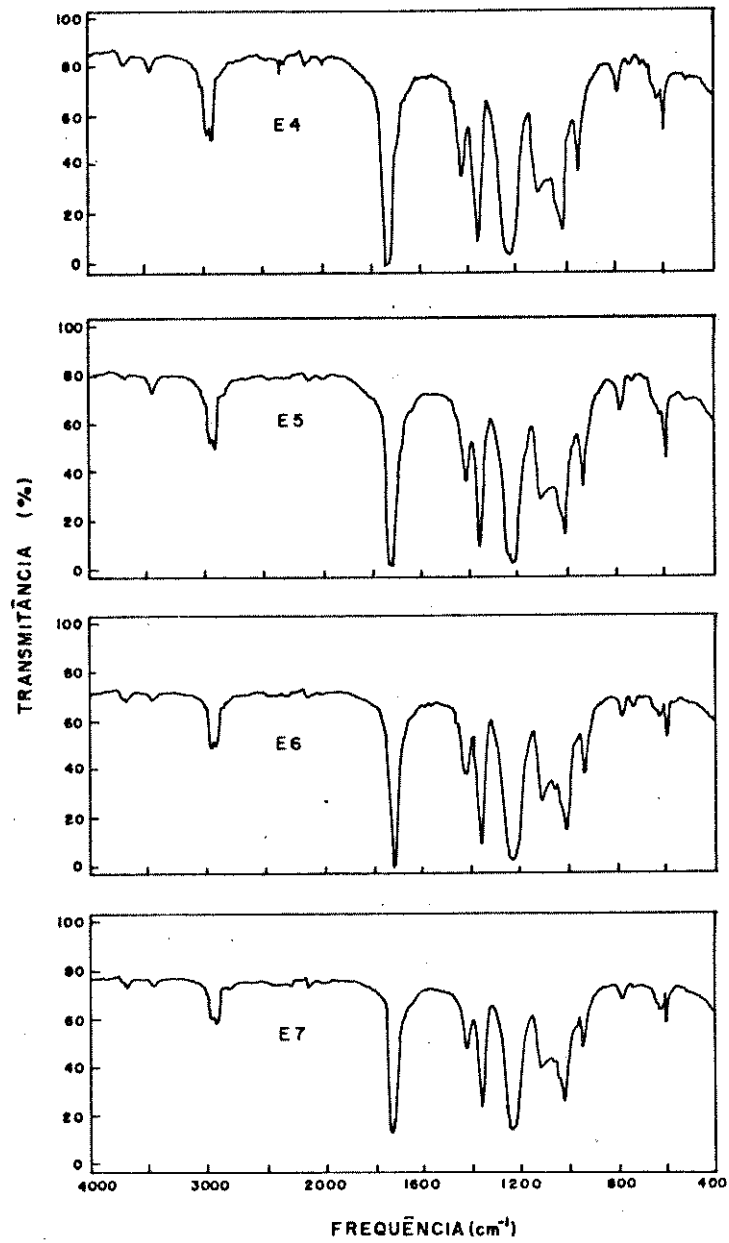


Figura 28. Espectros infravermelhos de frações de látex de PVA do adesivo (2), separadas por centrifugação zonal em gradiente de Percoll. E4: fração 2.2; E5: fração 2.3, E6: fração 2.4; E7: fração 2.5. (As frações se encontram identificadas na figura 26).

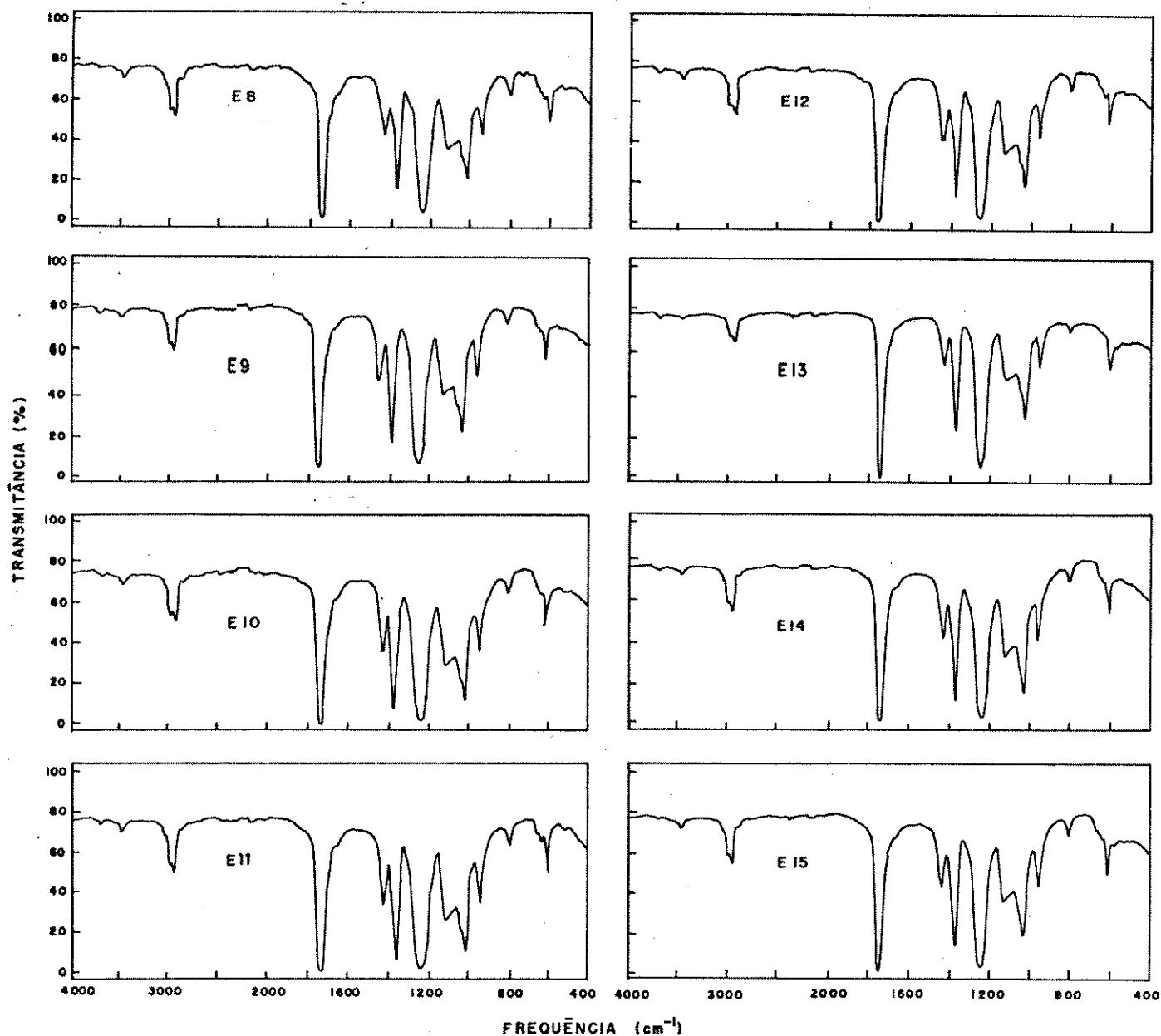


Figura 29. Espectros infravermelhos de frações de látex de PVA do adesivo (3), separadas por centrifugação zonal em gradiente de densidade de Percoll. E8: fração 3.5; E9: fração 3.6; E10: fração 3.7; E11: fração 3.8; E12: fração 3.9; E13: fração 3.10; E14: fração 3.11; E15: fração 3.12. (As frações se encontram identificadas na figura 26).

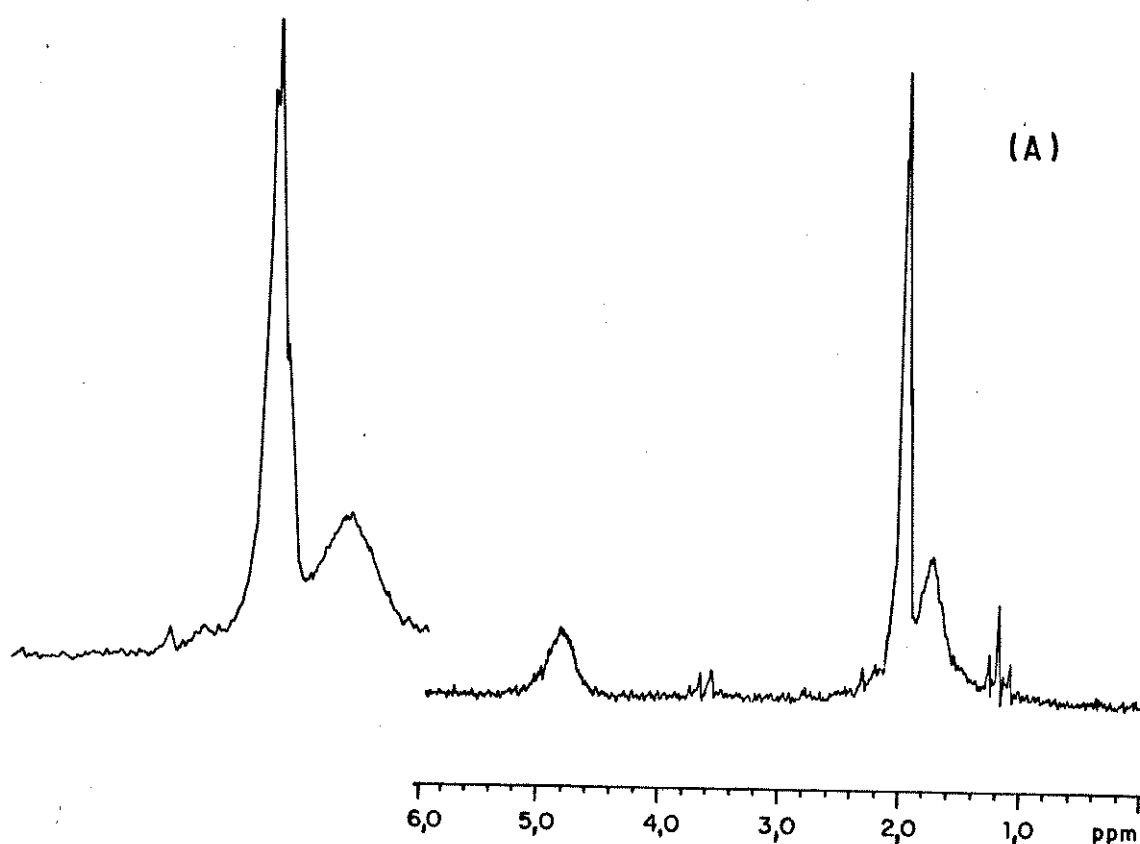


Figura 30. Espectros ^1H NMR de frações de látex de PVA do adesivo (3), separadas por centrifugação zonal em gradiente de densidade de Percoll. Solvente: CCl_4 ; Composto de referência: CHCl_3 . (A): Amostra original (8 mg); (B): Frações 5, 6 e 7 (4,3 mg); (C): Frações 8, 9 e 10 (4,3 mg); (D): Fração 11 (4,3 mg); (E): Fração 12 (1,4 mg). Instrumento: Bruker AW-80.

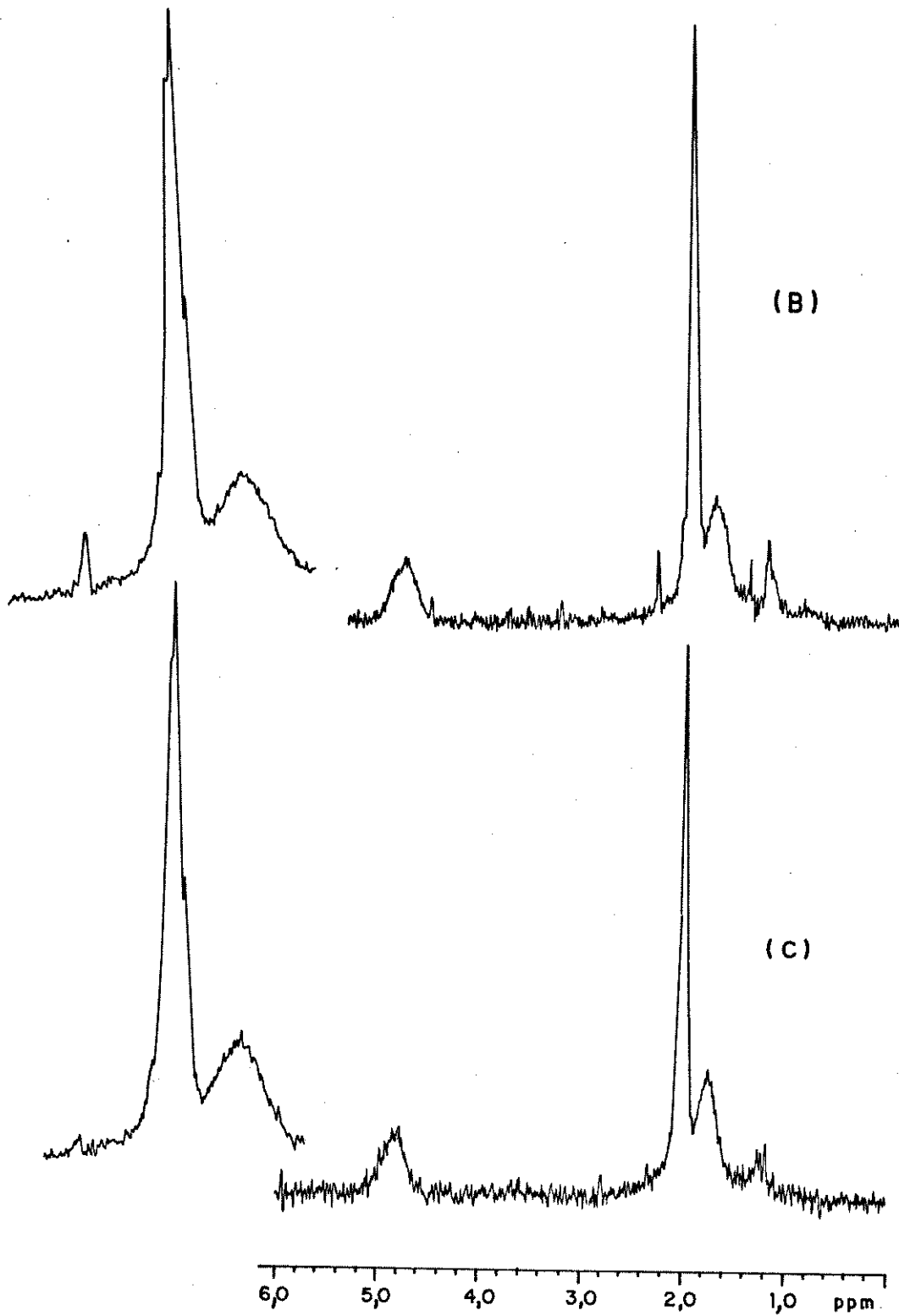


Figura 30. (continuação)

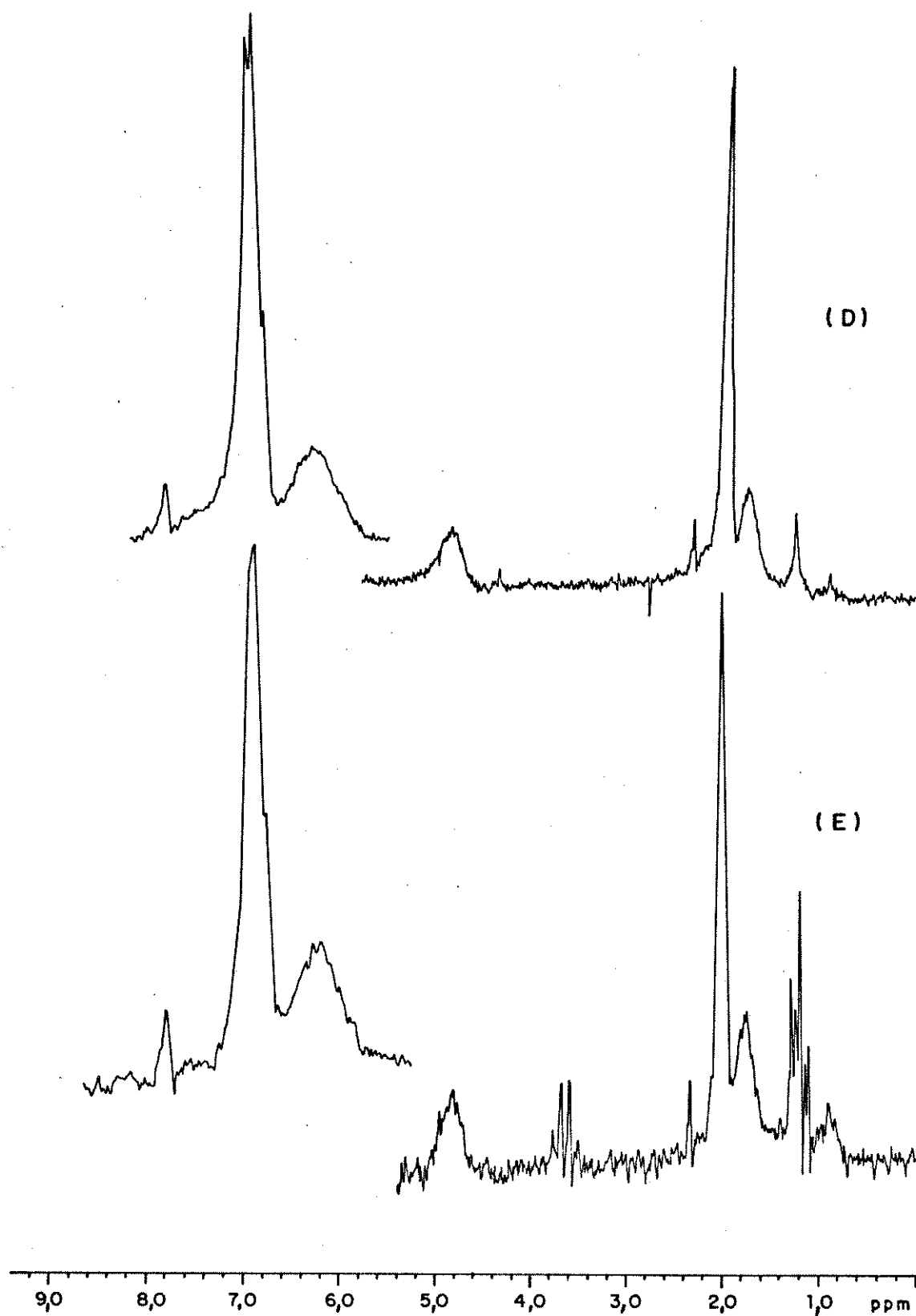


Figura 30. (continuação)

II.1.4. Separação de partículas

II.1.4.1. Látexes de poli(acetato de vinila) e poliestireno.

Foi gerado um gradiente de densidade por osmocontrifugação durante 50 min a 2000 rpm e 20°C. Sobre este gradiente, na mesma célula, foi aplicada uma banda contendo 0,2 ml de látex de poliestireno (PS) (0,6% w/w) e 0,2 ml da amostra de látex de PVA descrita no ítem II.1.2., que foi centrifugada por mais 20 min a 2000 rpm. Houve formação de duas bandas, uma atribuída a PS e a outra a PVA, nas posições mostradas na figura 31. O material de cada banda foi secado e extraído com tolueno; o extracto foi espalhado e secado sobre janela de NaCl para obtenção de filmes, cujos espectros no infravermelho foram obtidos. Os espectros (Fi-

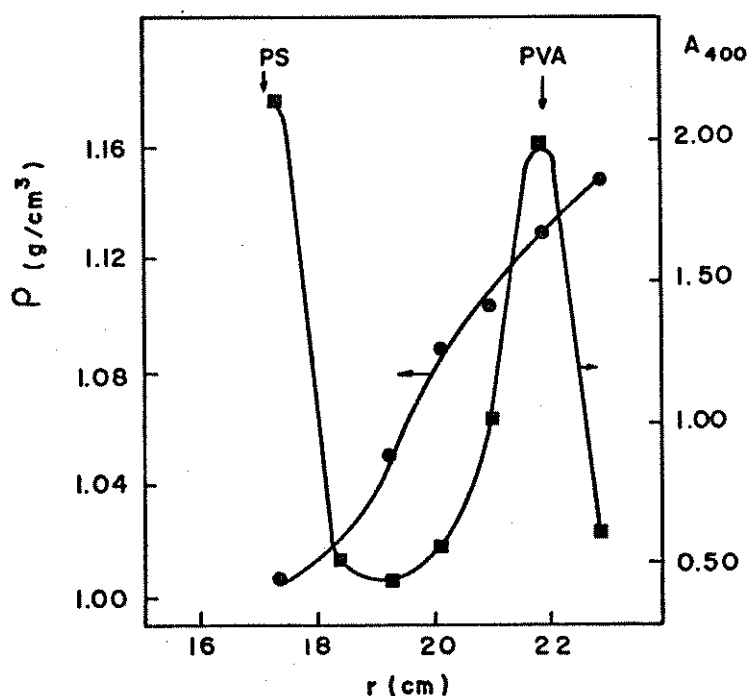


Figura 31. Separação de partículas de látexes de PVA e PS em gradiente de densidade de Percoll, por osmocentrifugação.

Formação do gradiente: 2000 rpm, 50 min, 20°C

Osmocentrifugação zonal: 2000 rpm, 20 min, 20°C.

gura 32) mostram que a separação dos latexos foi completa uma vez que o espectro de PVA não apresenta bandas do PS, nem o de PS apresenta bandas de PVA, dentro do limite de detecção do infravermelho.

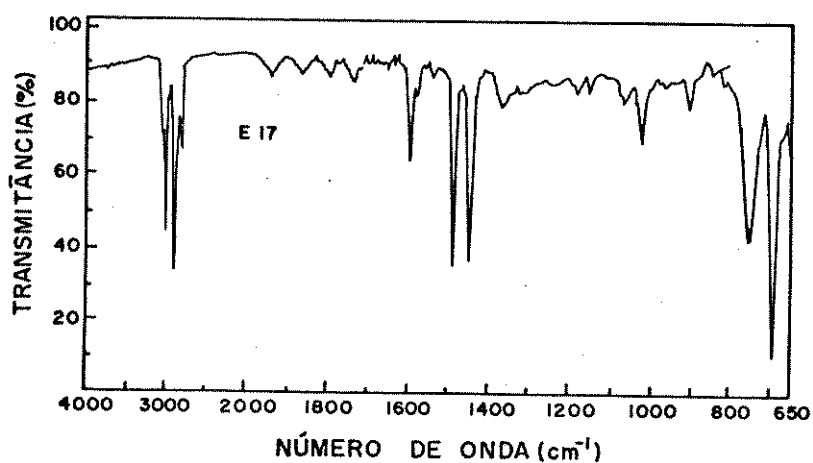
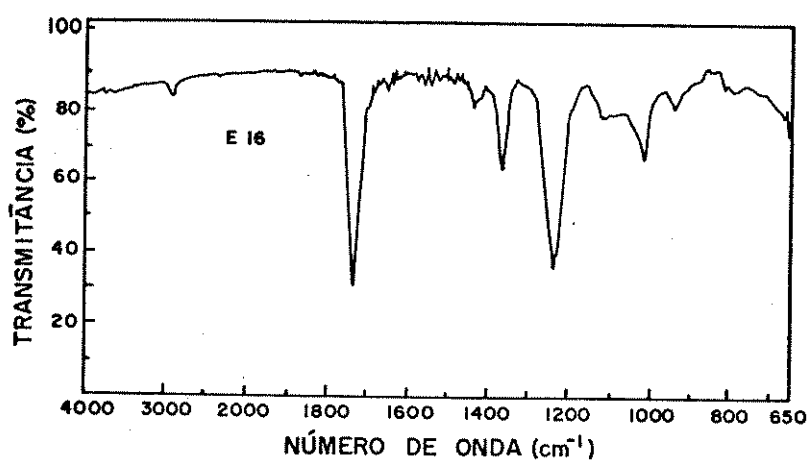


Figura 32. Espectros infravermelhos de PVA (E12) e PS (E17) separados por osmocentrifugação em gradiente de densidade de Percoll.

II.1.4.2. Adesivos a base de PVA e Carbonato de Cálcio.

Amostras de dois adesivos, (4) e (5) (conteúdo de sólido 23% e 32% w/w, respectivamente) 1 ml de cada foram adicionadas sobre gradiente de densidade de Percoll gerados por osmocentrifugação (10 min, 1000 rpm, 20°C) e transferidos para tubos de vidro. Após a centrifugação dos tubos por 20 h a 1500 rpm, o comportamento das partículas no gradiente foi observado na figura 33. Foram determinados os gradientes de densidade (figura 34) através de medidas de índice de refração das frações ao longo dos tubos, identificadas na figura 35.

Foi recolhido material da banda e do fundo da cada tubo cujos espectros infravermelhos foram obtidos (figuras 36 a 38). Nos dois casos o material espalhado pelo tubo é PVA (figura 36) e o sólido acumulado no fundo do tubo é uma mistura de PVA e CaCO_3 (figuras 37 e 38), com uma diferença: a quantidade de PVA é maior no caso do adesivo (4). Estes sólidos foram extraídos com tolueno e foram obtidos espectros infravermelhos do material extraído e do sólido residual. Observa-se que somente uma parte do PVA pode ser separada do carbonato de cálcio por extração, pois as bandas de PVA não desaparecem dos espectros dos sólidos após a extração (figuras 37 e 38).



Figura 33. Centrifugação zonal de amostras dos adesivos (4) e (5), em gradientes de densidade de Percoll.

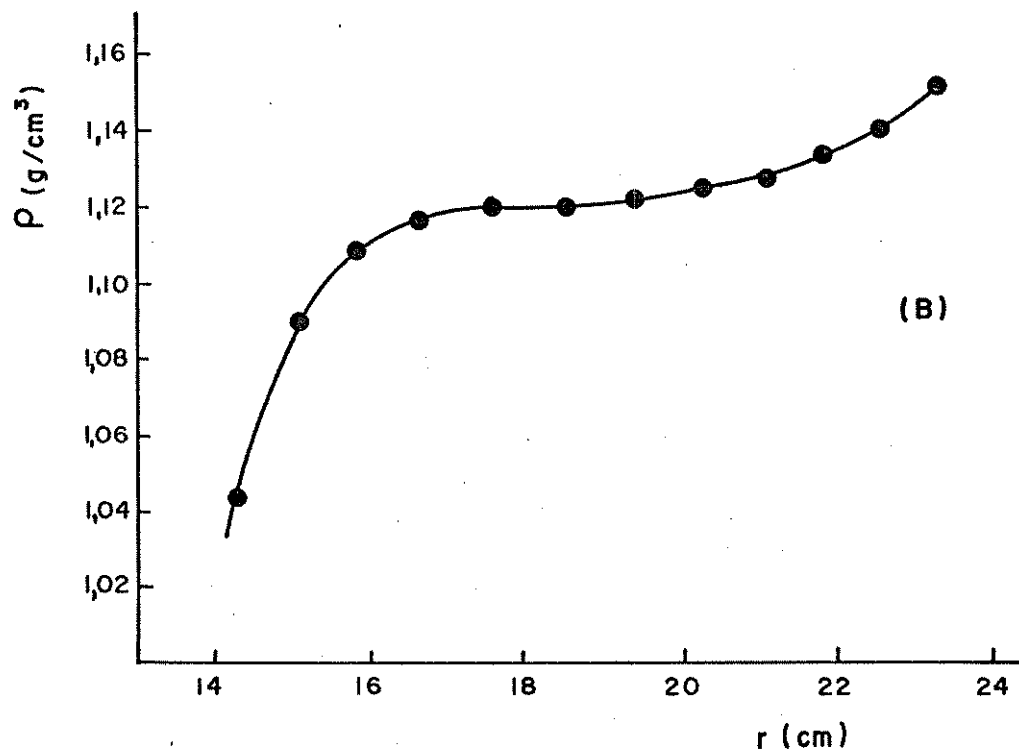
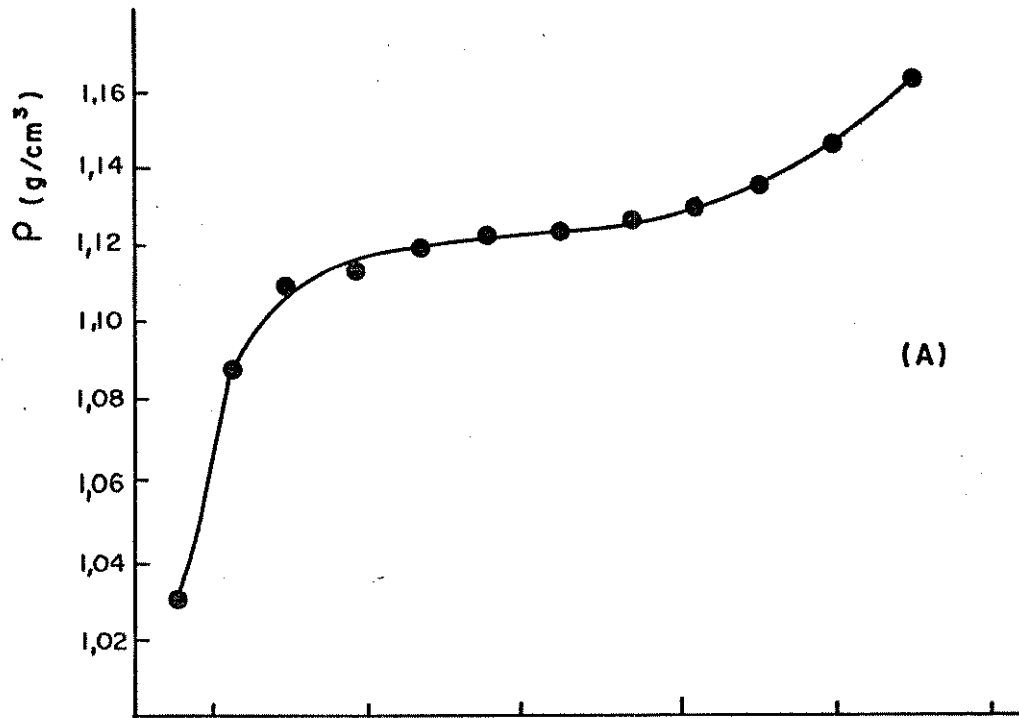


Figura 34. Gradientes de densidade de Percoll obtidos no fracionamento dos adesivos (4) (A) e (5) (B).

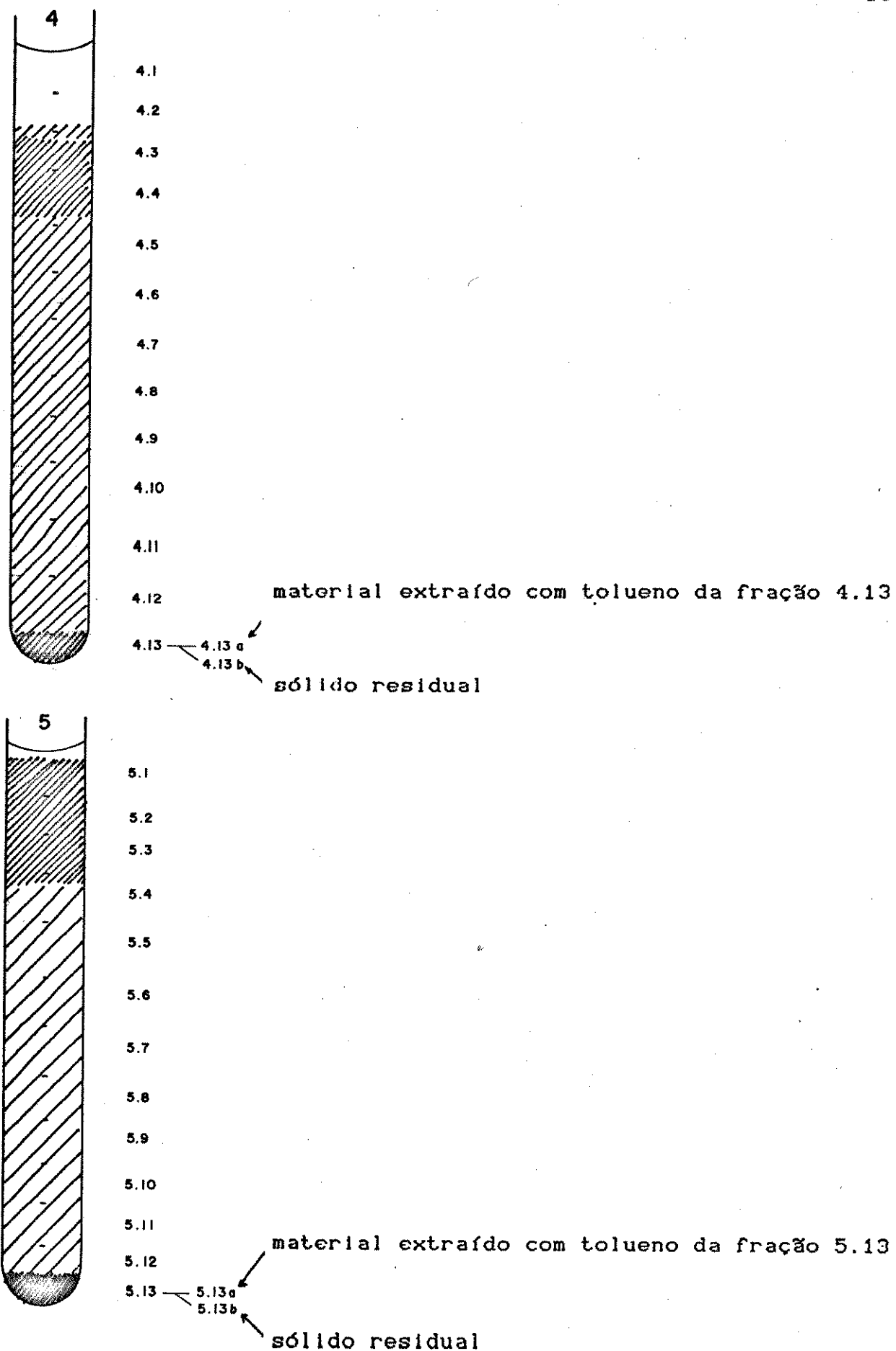


Figura 35. Identificação das frações dos gradientes obtidos no fracionamento das amostras (4) e (5).

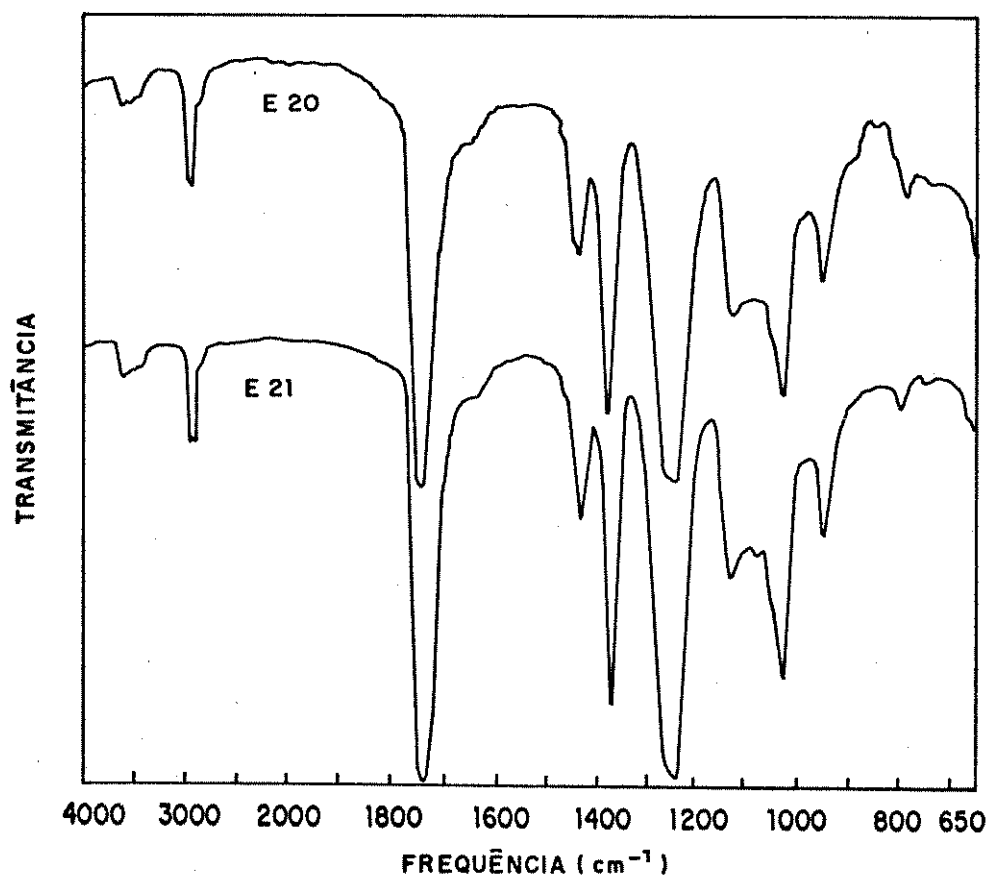
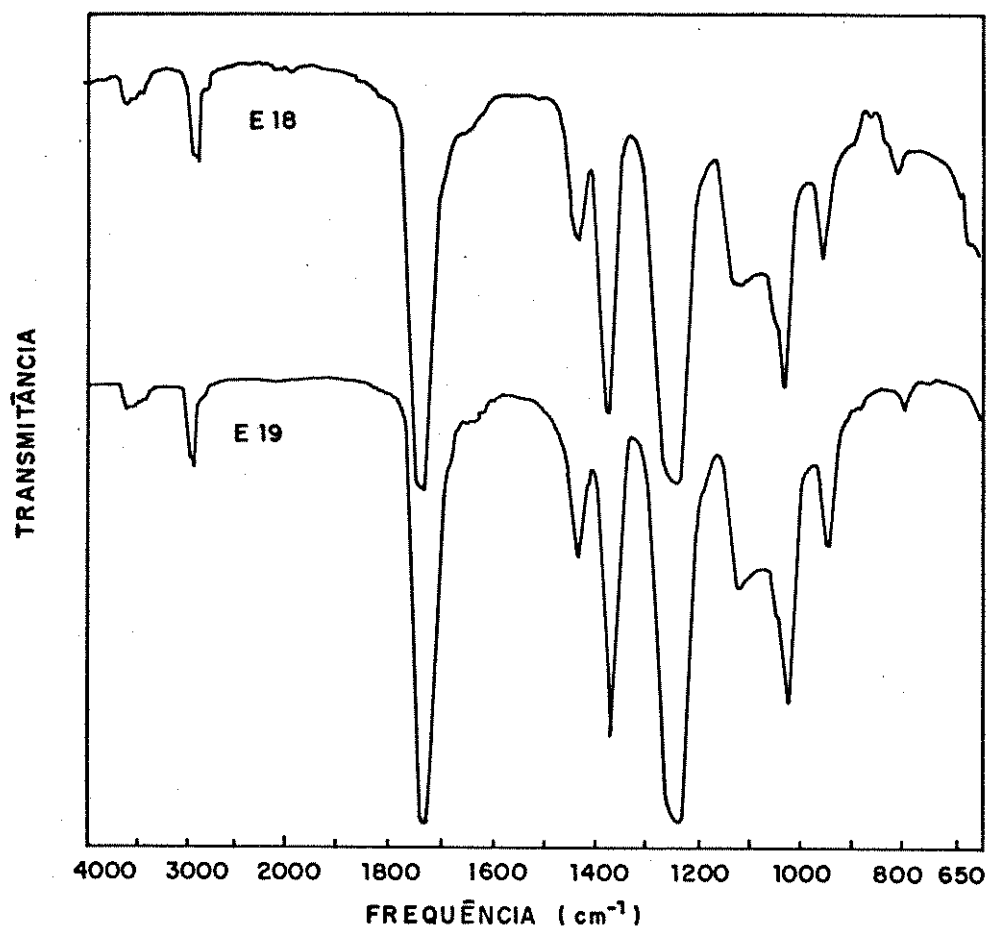


Figura 36. Espectros infravermelhos dos materiais separados nas frações (identificadas na figura 35) 4.3 e 4.4: E18; 4.13a: E19; 5.1, 5.2 e 5.3: E20; 5.13a: E21.

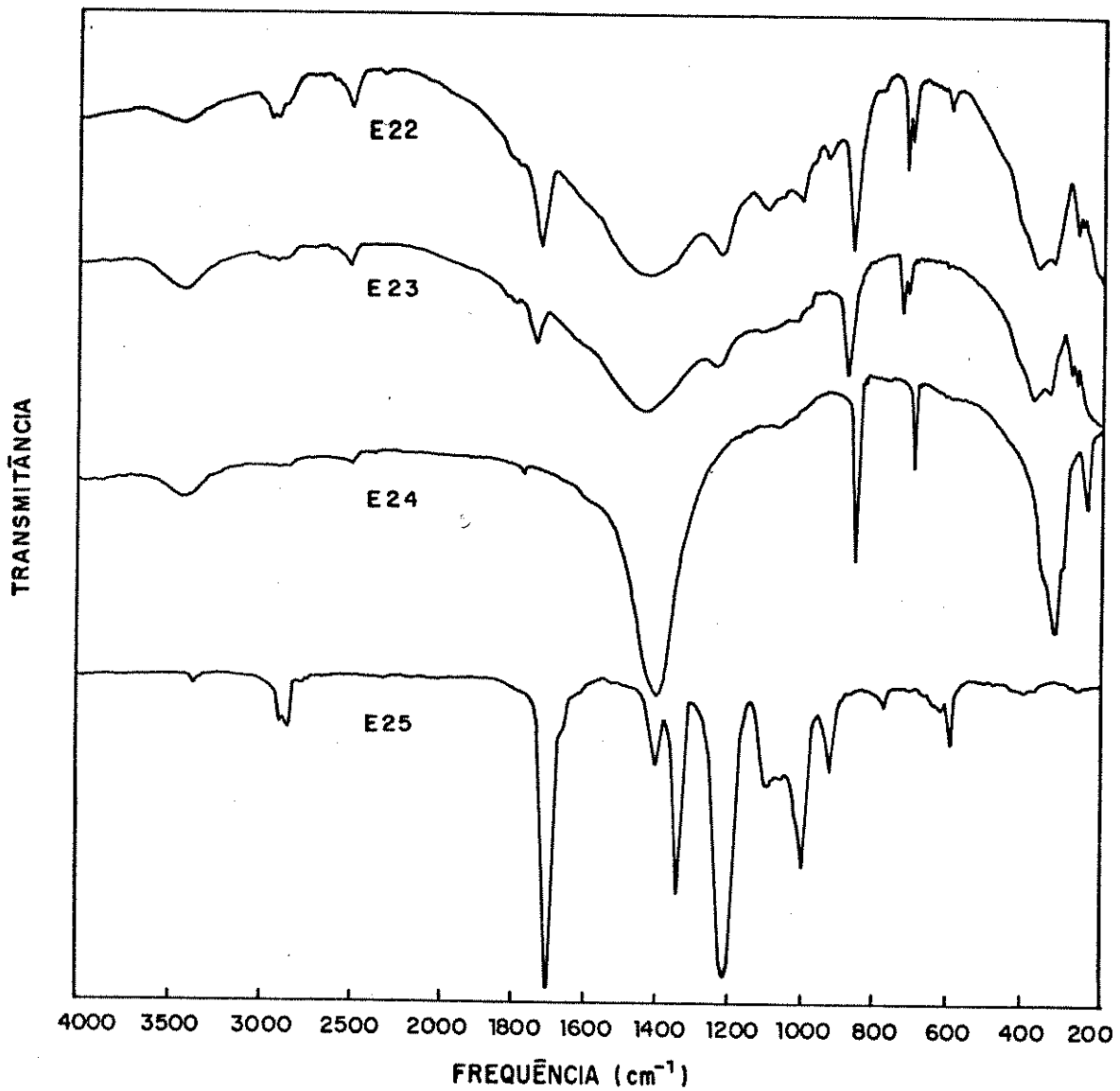


Figura 37. Espectros infravermelhos dos materiais separados nas frações (identificadas na figura 35), 4.13: E22; 4.13b: E23; carbonato de cálcio: E24 (92); PVA: E25 (92).

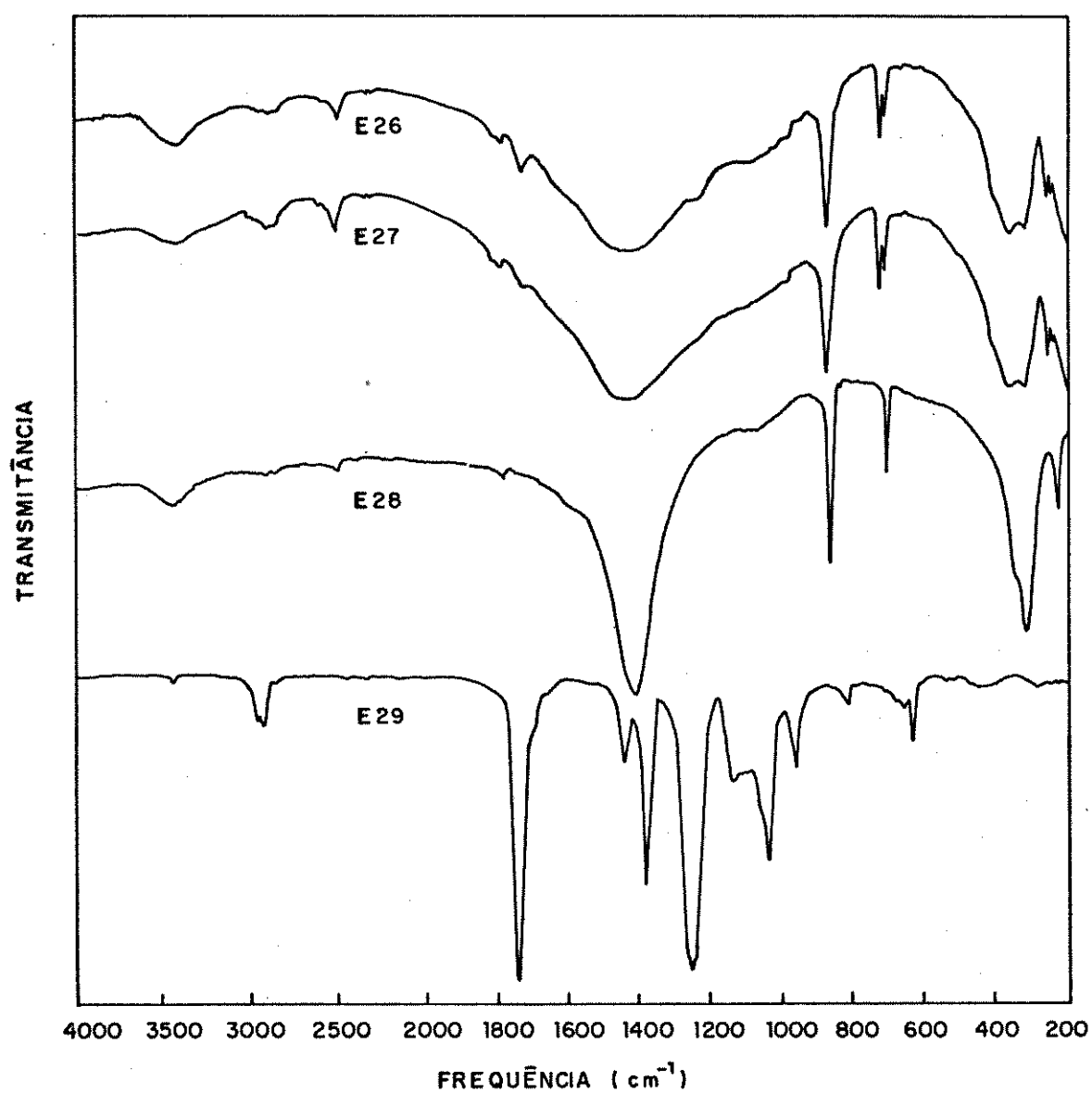


Figura 38. Espectros infravermelhos dos materiais separados nas frações (identificadas na figura 35), 5.13: E26; 5.13b: E27; carbonato de cálcio: E28 (92); PVA: E29 (92).

II.1.4.3. Tinta branca a base de PVA.

Neste experimento foi gerado um gradiente de densidade de Percoll, por osmocentrifugação (60 min, 2000 rpm, 20°C); este foi transferido para um tubo de vidro. Sobre o gradiente foi adicionada uma alíquota de 0,5 ml de uma amostra de tinta branca a base de PVA (conteúdo de sólidos = 22% w/w, determinados por gravimetria). O tubo foi então centrifugado por 26 horas a 2000 rpm, conseguindo-se o fracionamento observado na figura 39 (equilíbrio isopícnico); o gradiente de densidade correspondente se encontra na figura 40.

Foram obtidos espectros no infravermelho do material da banda no meio do gradiente (espectro E35 da figura 41), que confirma que se trata de PVA, e do material do fundo do tubo (espectros E30 e E31 da figura 41). Neste caso o espectro mostra a presença de óxido de titânio: a banda larga de $750-500\text{ cm}^{-1}$ é observada na região de $750-600\text{ cm}^{-1}$ e também a banda de 355 cm^{-1} . Em relação ao outro componente as bandas de $535, 480$ e 430 cm^{-1} se comparam bem com as de caolin (espectro E33 da figura 41), na região de 900 a 1150 cm^{-1} a forma e ordem nas intensidades das bandas também se assemelham às de caolin, mas as posições não coincidem. Com a informação disponível não pode ser excluída a possibilidade de presença de mica (espectro E34 da figura 41) que também apresenta absorções nas regiões $900-1200\text{ cm}^{-1}$ e $400-600\text{ cm}^{-1}$. A posição das absorções no infravermelho desta fração mineral e dos possíveis componentes: caolin, mica e óxido de titânio se encontram na Tabela X. A presença de TiO_2 foi confirmada por difração de raios x. A identificação de aluminossilicatos por este método requer de previa remoção do TiO_2 .

Do material localizado no topo do gradiente não se conseguiu quantidade suficiente para fazer o espectro.



Figura 39, Bandeamento de amostra tinta branca a base de PVA em gradiente de densidade de Percoll.

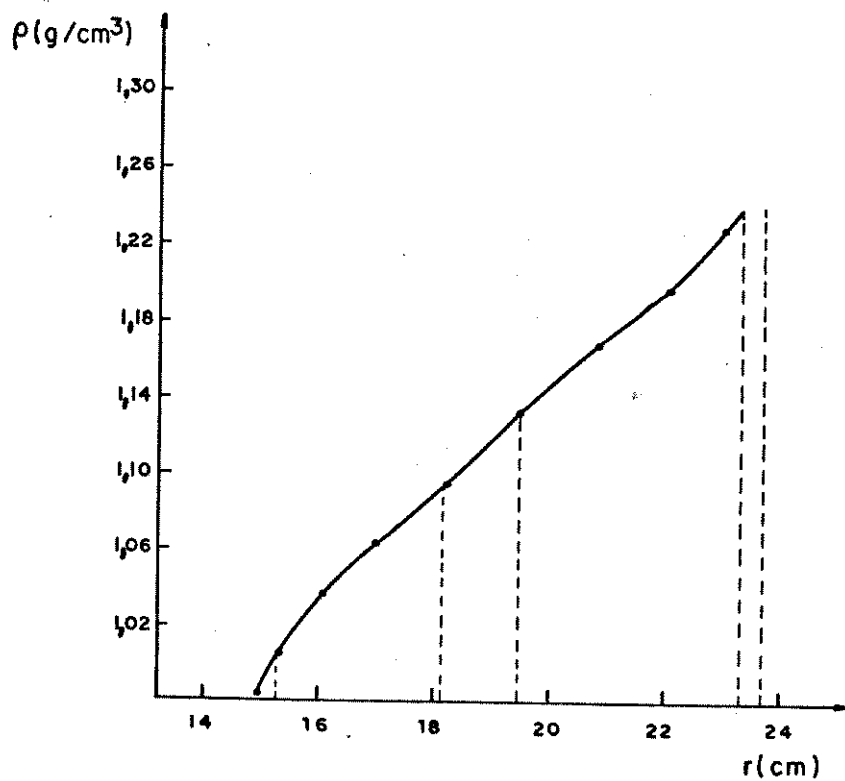


Figura 40. Gradiente de densidade de Percoll utilizado no fracionamento de amostra de látex de tinta branca a base de PVA.

Tabela X. Posição das absorções no infravermelho (cm^{-1}) da fração mineral de tinta branca a base de PVA, e dos possíveis componentes, obtidas dos espectros da figura 11.

Fração mineral de tinta a base de PVA	Caolin	Mica	óxido de titânio
3670	3690		
	3620	3630	
3440 (H_2O)	3450 (H_2O)	3450 (H_2O)	3440 (H_2O)
1630 (H_2O)	1630 (H_2O)		
1115	1110	1120-	
1065	1035	980	
1045	1010		
940	915	940	
		830	
750 -	700		750-500
535	540	535	
480	470	480	
415	430	410	
360	350	350	350

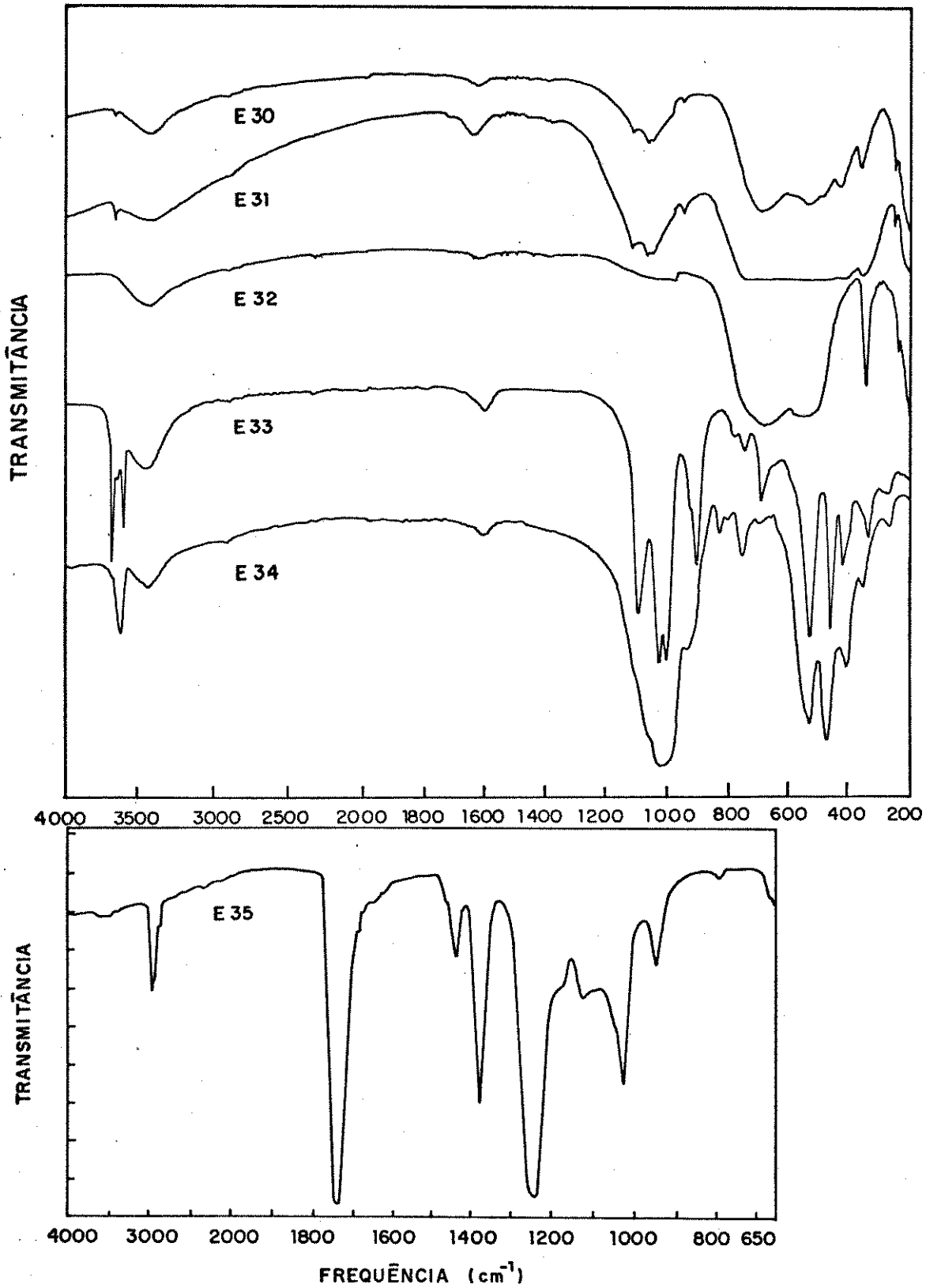


Figura 41. Espectros infravermelhos de:

E30 e E31 (pastilhas de KBr): fração mineral, concentrações de 0.5% e 1% respectivamente

E32 (pastilha de KBr): óxido de titânio

E33 (92): silicato de alumínio (caolín): $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

E35 (filme): látex localizado no meio do gradiente

II.1.4.4. Tinta branca acrílica.

Foram realizadas experiências de centrifugação zonal em dois gradientes diferentes de Percoll, com uma tinta branca acrílica (conteúdo de sólidos 22% w/w). Os gradientes de densidade foram gerados por osmocentrifugação: 60 min, 2000 rpm, 20°C, com Percoll de densidade de partida de 1,132 g/cm³ (caso A) e 25 min, 2000 rpm, 20°C, com Percoll de densidade 1,063 g/cm³ (caso B), e transferidos para tubos de vidro. Após adicionar 1 ml de amostra de tinta sobre os gradientes, os tubos foram centrifugados por 20 horas a 2500 rpm, obtendo-se as distribuições observadas na figura 42 e os correspondentes gradientes da figura 43. A faixa de densidade do material polimérico, determinada a partir da figura 43 foi de 1,013 a 1,063 g/cm³. Estes valores correspondem a médias das duas determinações (experimentos A e B), $\Delta\rho(\text{máx.}) = 0,004 \text{ g/cm}^3$.

Foram obtidos espectros no infravermelho das partículas localizadas nas frações (identificadas na figura 42): A2, A3, A11, A11-a, A11-b, B3, B4 e B5, que se encontram nas figuras 44 e 46. A partir destes espectros foi possível concluir que:

1. O material polimérico da banda (frações A2, A3, B3, B4 e B5) é um polímero formado por estireno e um ou mais monómeros acrílicos. Há uma grande semelhança entre os espectros deste material (espectros E36 a E40 da figura 44) e o espectro do copolímero estireno/acrilato de 2-etil hexila (espectro E43 da figura 45), principalmente com as frações de maior densidade: note-se as regiões de 1000 a 1080 cm⁻¹ e 1350 a 1400 cm⁻¹ em E37, E39 e E40 da figura 44. Estas mesmas regiões, nas frações de densidade menor (E36 e E38 da figura 44) se assemelham mais ao que se observa no espectro do monómero n-butilacrilato (E42 da figura 45).

2. A razão entre as absorvâncias dos picos de 1725 cm^{-1} (atribuído a acrilato) e de 625 cm^{-1} (atribuído a estireno) aumenta com o aumento da densidade do material polimérico (Tabela XI). Isto indica que há uma variação na razão entre estireno e monômero(s) acrílico(s) no polímero; a densidade diminui com o aumento no conteúdo de estireno.

3. Aparecem nos espectros duas absorções que não correspondem nem a poliestireno nem a poliácrlato: 1530 a 1580 cm^{-1} e 420 a 500 cm^{-1} esta última é marcadamente mais intensa nas frações A2 (E36 da figura 44) e B3 (E3B da figura 44) que são as de menor densidade.

Foram atribuídas à presença de carboxilatos de íon metálico ($\omega\text{-COO-M}$), grupos estes que podem ser formados por hidrólise do acrilato ou por oxidação do polímero, talvez induzidas mecaniquicamente durante procedimentos de moagem e/ou misturas, na fabricação da tinta.

Este polímero não dissolve em solventes comuns de poliácrlatos e poliestireno.

Tabela XI. Absorvâncias das bandas em 1725 cm^{-1} (poliácrlato) e em 695 cm^{-1} (poliestireno) dos espectros infravermelhos das frações poliméricas obtidas nas experiências de fracionamento de latex de tinta acrílica em gradientes de densidades.

Fração	A(1725) $\pm 0,008$	A(695) $\pm 0,008$	A(1725)/A(695) $\pm 0,05$
A2	0,571	0,407	1,40
A3	0,714	0,466	1,53
B3	0,444	0,391	1,14
B4	0,776	0,653	1,19
B5	0,629	0,493	1,28

4. O espectro do material que se acumula no fundo do tubo (espectro E45 da figura 46) foi analisado e comparado com os espectros de carbonato de cálcio, caolín, mica e óxido de titânio, espectros E47, R48, E49 e E50 da figura 46. Foram feitas extrações com tolueno; o espectro do composto extraído (fração A11-a, espectro E51 da figura 47) mostra que se trata de PVA. No sólido residual obtido após a extração (fração A11-b; espectro E46 da figura 46) as bandas correspondentes a PVA (1740 e 1245 cm^{-1}) diminuem de intensidade. A presença de TiO_2 e CaCO_3 foi confirmada por difração de raios x.

Na Tabela XII, se encontram os valores das absorções no infravermelho desta fração mineral e dos possíveis componentes. Destes a presença de carbonato de cálcio e PVA é claramente observada pela comparação dos espectros. Do óxido de titânio, a banda larga em $750\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ só é observada na região de $750\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ que não superpõe com as bandas dos demais componentes. Em relação a caolín e mica, na literatura há informação dos dois serem componentes de tintas a base de PVA (93), no nosso caso os espectros não permitem uma conclusão definitiva em relação a presença de um só ou dos dois.

Uma informação de muito valor foi a ausência de PVA no material polimérico e sua presença na carga mineral, onde é provavelmente usado como estabilizante. De outro lado, este estabilizante polimérico não é removido completamente por extração com solvente (como foi também observado no caso dos adesivos a base de carbonato de cálcio e PVA), ou seja, parte do PVA se encontra adsorvido ou ocluído nas partículas de carga mineral.

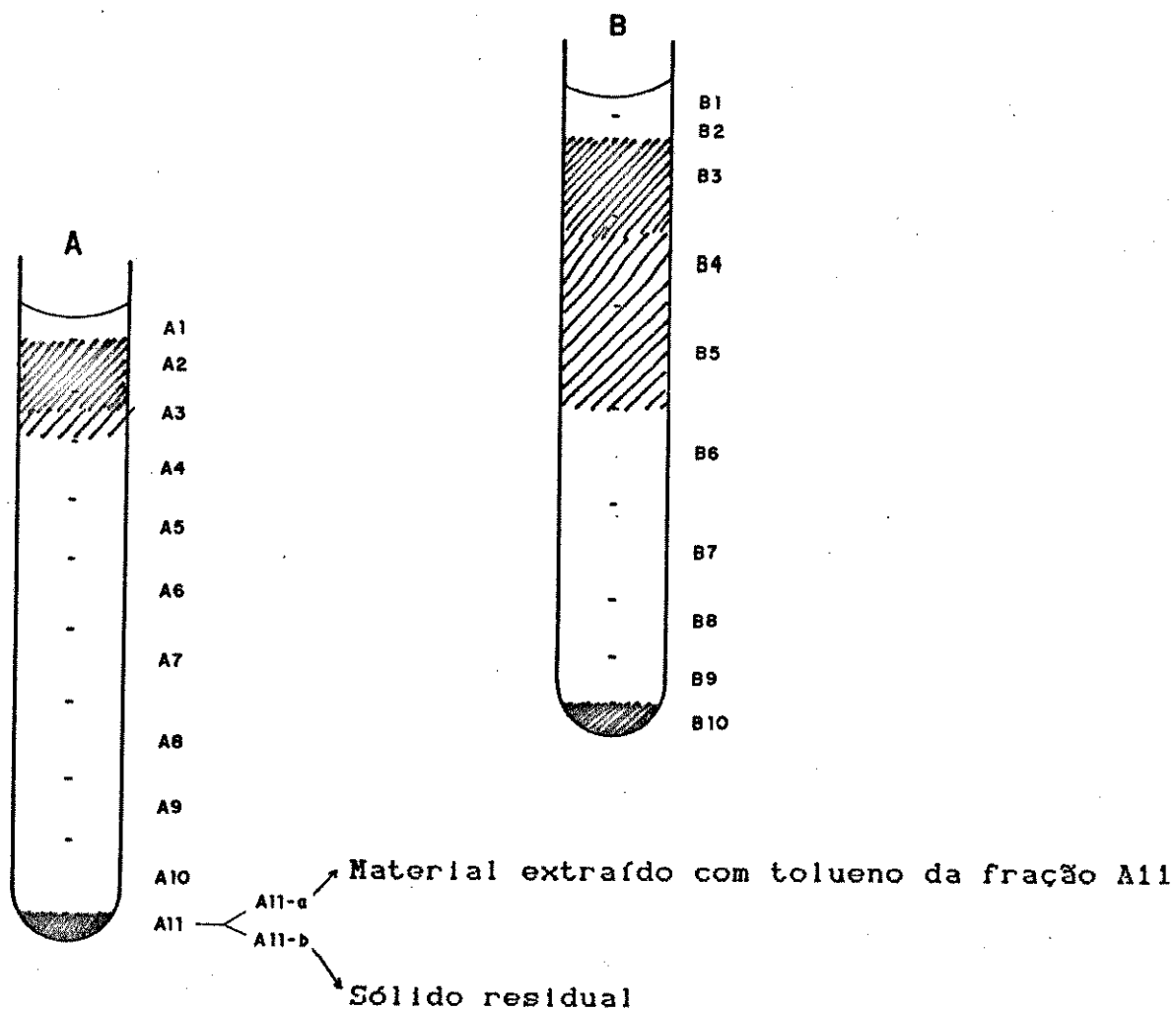


Figura 42. Distribuição de partículas de um látex comercial (tinta acrílica) em gradientes de densidade de Percoll e identificação das frações retiradas para determinação da densidade e obtenção de espectros.

Tabela XII. Posição das absorções no infravermelho (cm^{-1}) da fração mineral de tinta acrílica, e dos possíveis componentes, obtidos dos espectros da figura 46.

Fração mineral de tinta acrílica	carbonato de cálcio	caolin	mica	óxido de titânio	PVA
3670		3690			
3620		3620	3630		
3440 (H_2O)	3430	3450	3450	3440	
2980-2820	2900				2975,
2510	2520				
1790	1800				
1735					1735
1500-1420	1430				1435
					1370
1235					1240
1115		1110	1180-980		1125
1070-1000		1035, 1010			1020
945			940		945
		915			
870	870				
850					
830			830		
760-		755	755	750-500	
710	715	700			
535		540	535		
480		470	480		
415		430	410		
360-310	370-310	350	350	350	

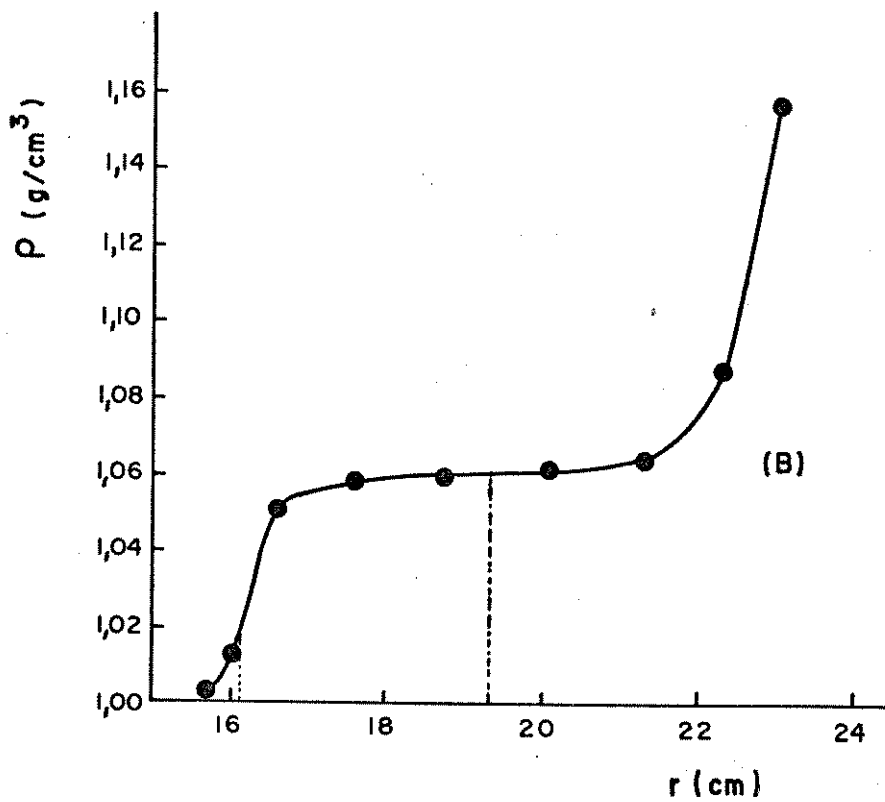
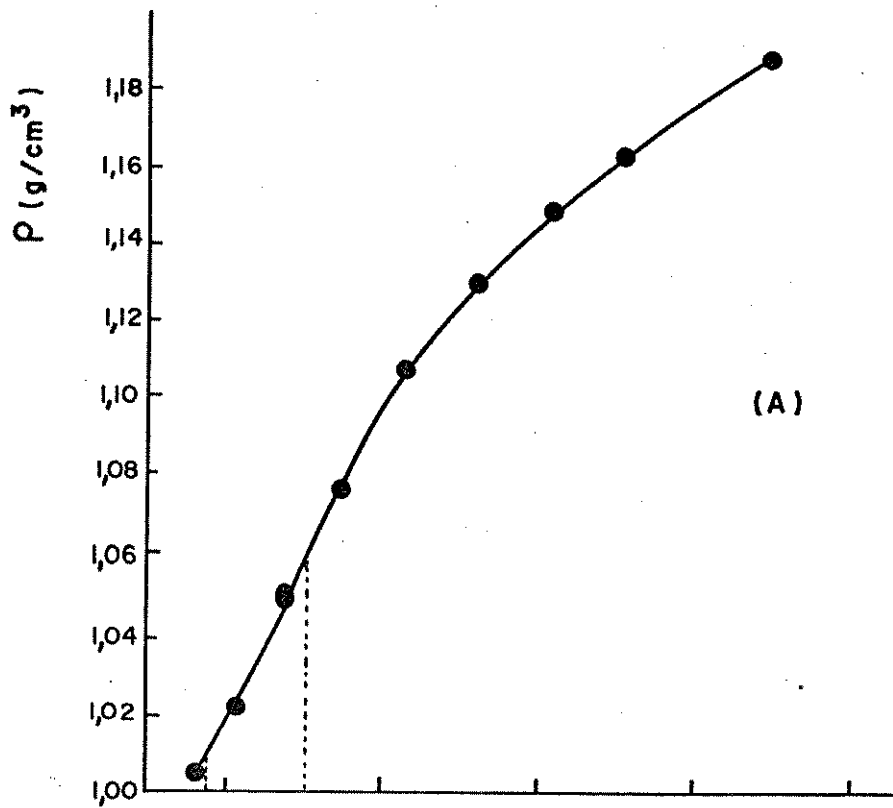


Figura 43. Gradientes de densidade de Percoll e posição das bandas de partículas poliméricas, obtidos no fracionamento da amostra de tinta branca acrílica.

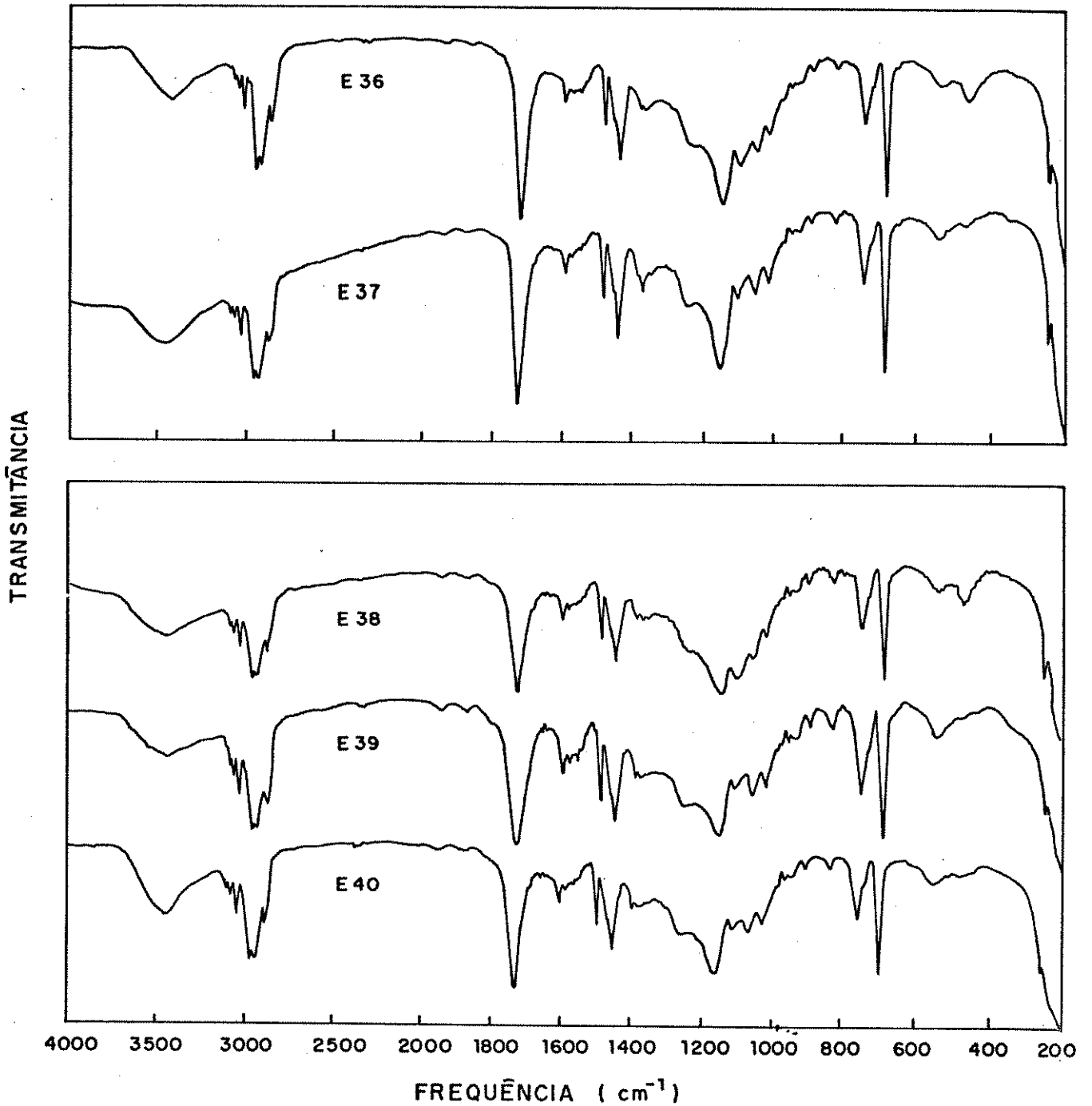


Figura 44. Espectros infravermelhos (pastilhas de KBr) dos materiais poliméricos separados nas frações A2: E36; A3: E37; B3: E38; B4: E39; B5: E40, obtidas por centrifugação em gradiente de densidade de tinta acrílica.

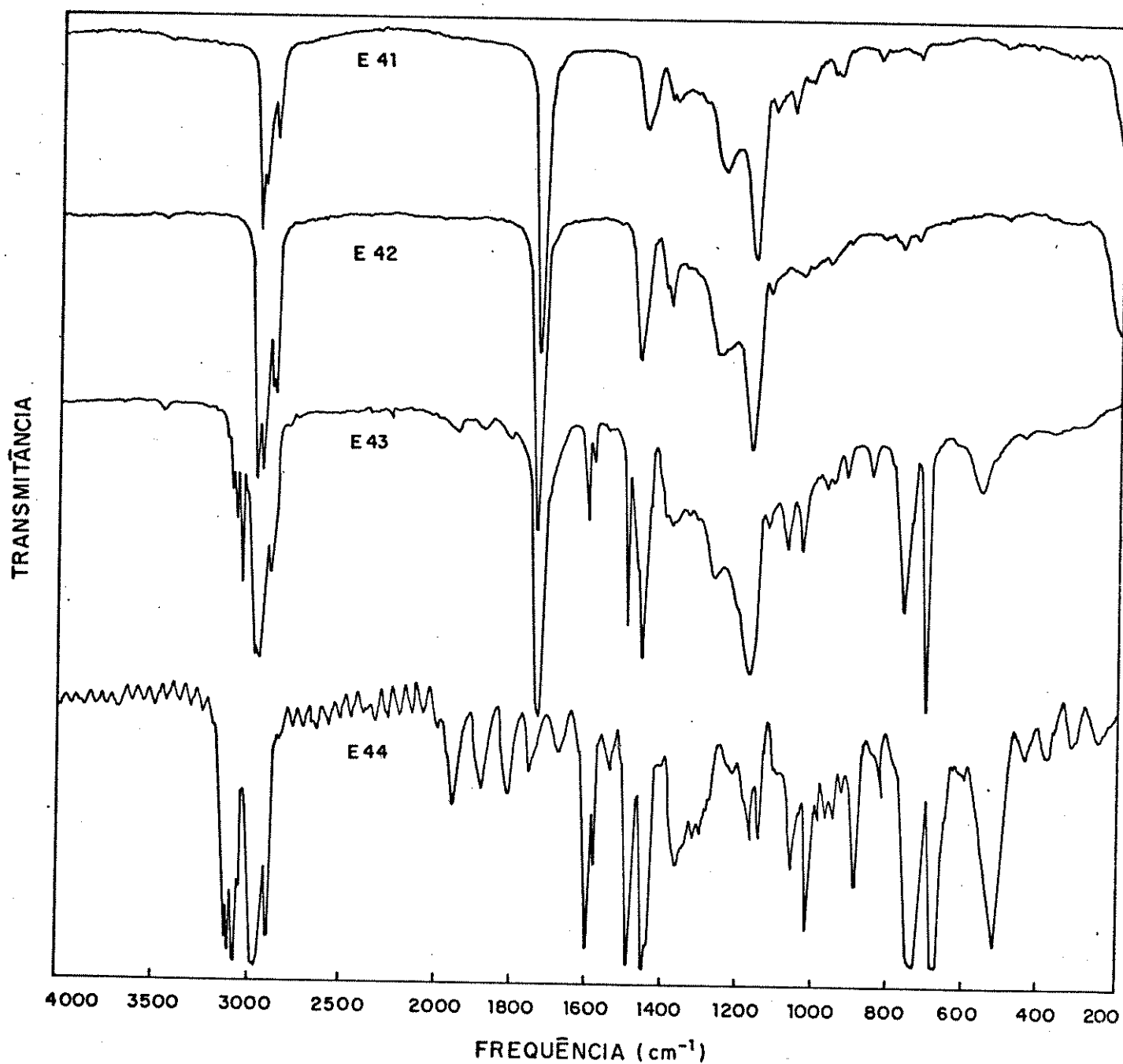


Figura 15. Espectros infravermelho de poli(acrilato de n-butila): E41; poli(acrilato de 2-etil hexila): E42 ; copolímero estireno/ acrilato de 2-etil hexila: E43 e poliestireno: E44, da referência 92.

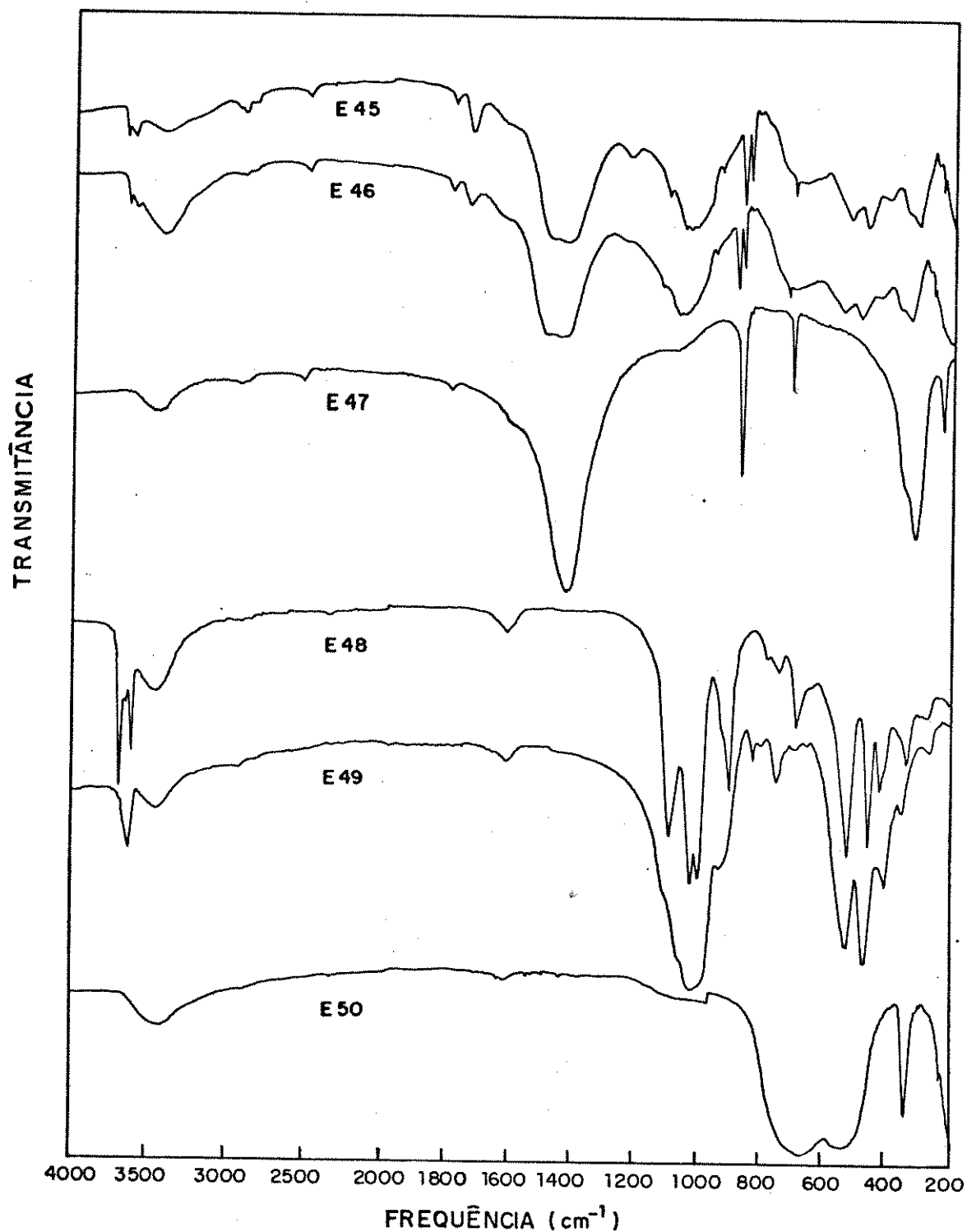


Figura 46. Espectros infravermelhos dos materiais obtidos nas frações A11: E45 (pastilha KBr); A11-b: E46 (pastilha KBr); carbonato de cálcio (calcita): E47 (92); caolín: E48 (92); mica: E49 óxido de titânio: E50 (pastilha KBr).

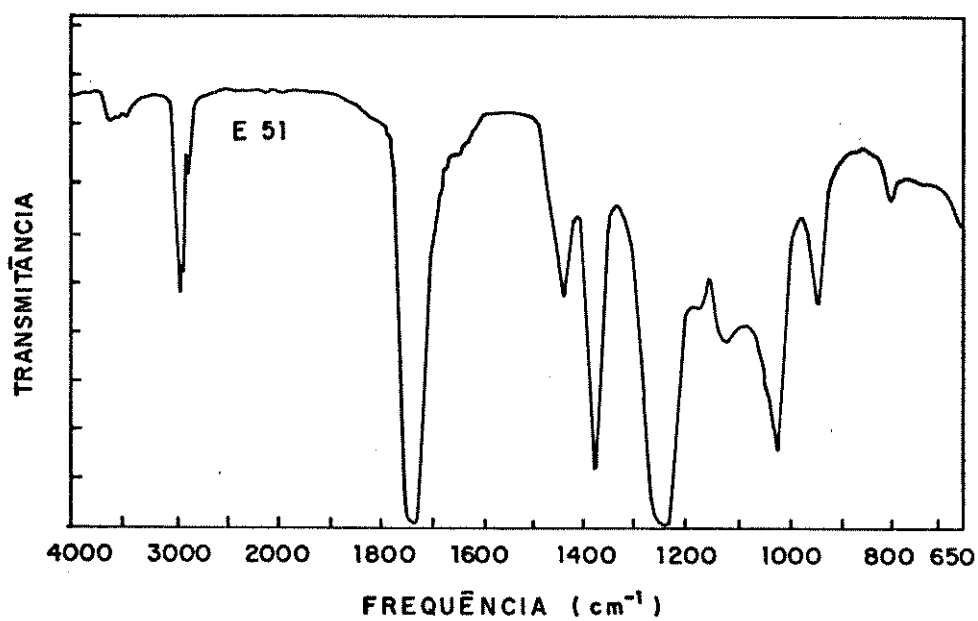


Figura 47. Espectro infravermelho da fração A11-a, que corresponde ao material extraído com tolueno da fração A11 (ver Figura 42)

11.2. DISCUSSÃO

11.2.1. Gradientes de densidade gerados por osmocentrifugação e ultrafiltração centrífuga.

Para analisar os resultados obtidos na formação de gradientes de densidade com solução aquosa de Ficoll em diferentes condições (Tabela V, Figura 17) foram construídos os gráficos de inclinação à meia altura dos gradientes (dp/dr) em função da velocidade de rotação (Figura 47 A) e do tempo de centrifugação (Figura 47 B).

No caso de osmocentrifugação o gradiente de densidade é gerado pela sedimentação do macrosoluto (mais denso que o solvente), que neste experimento é acelerada pelo contato osmótico com o solvente. Este gradiente se acentua durante a centrifugação, até que o sistema atinge o estado de equilíbrio de sedimentação-difusão.

- Para velocidade de rotação constante e tempos de centrifugação diferentes (Figura 47 B): 1. No caso de osmocentrifugação o valor de dp/dr para 60 e 120 min estão muito próximos considerando o erro de $\pm 0,4 \text{ g/cm}^3$ (calculado a partir de $\Delta\rho = \pm 0,002$ e $\Delta r = \pm 0,2$), podemos dizer que com uma hora de centrifugação tanto para 1000 como para 2000 rpm o sistema está muito próximo do equilíbrio.

2. No caso de ultrafiltração centrífuga, no entanto, há uma diminuição significativa da inclinação do gradiente ao aumentar o tempo de centrifugação.

- Para tempo de centrifugação constante e diferentes velocidades de rotação (Figura 47 A): 1. No caso de osmocentrifugação a inclinação aumenta significativamente ao aumentar o campo. Isto concorda com a expectativa no caso de sistemas que se aproximam ao equilíbrio de sedimentação-difusão (equação [7]), ou seja, o

gradiente de concentração é mais acentuado para campos maiores.

2. No caso de ultrafiltração centrífuga novamente se tem uma diminuição da inclinação do gradiente, agora com o aumento da velocidade de rotação.

Há dois fatores envolvidos na formação de gradiente por ultrafiltração centrífuga. De um lado, a solução do fundo da célula é concentrada mais rapidamente que a solução do topo, devido ao gradiente e pressão ao longo da coluna. Por outro lado, a camada de solução concentrada que se forma nas vizinhanças da membrana durante a filtração, é transferida para o fundo da célula por convecção. Após algum tempo, quando houver uma coluna de solvente filtrado no outro compartimento, deverá também ocorrer o fenômeno de osmossedimentação, uma vez que a solução estará em contato com o solvente através da membrana. Em tempos longos, o gradiente gerado deve ser também o de equilíbrio.

Os resultados mostram que o gradiente de concentração gerado por ultrafiltração centrífuga muda durante a centrifugação de uma forma como descreve a figura 4B: numa primeira etapa é gerado um gradiente que é mais acentuado que o correspondente ao equilíbrio; posteriormente, uma vez que os níveis de líquidos dentro da célula são tais que não mais ocorre filtração, se tem uma redistribuição do soluto até atingir o equilíbrio.

Foi observado também que para o mesmo tempo de centrifugação o gradiente é mais acentuado quando gerado a uma velocidade de rotação mais baixa. Com o aumento da velocidade de rotação a etapa de filtração é mais rápida e o tempo para atingir o equilíbrio é também menor. Logo podemos afirmar que os gradientes obtidos em 2000 rpm estão mais próximos do equilíbrio do que os correspondentes a 1000 rpm. Em tempos muito longos deve inverter-se a ordem destes valores: o gradiente de 2000 rpm ser mais acentua-

do que o de 1000 rpm.

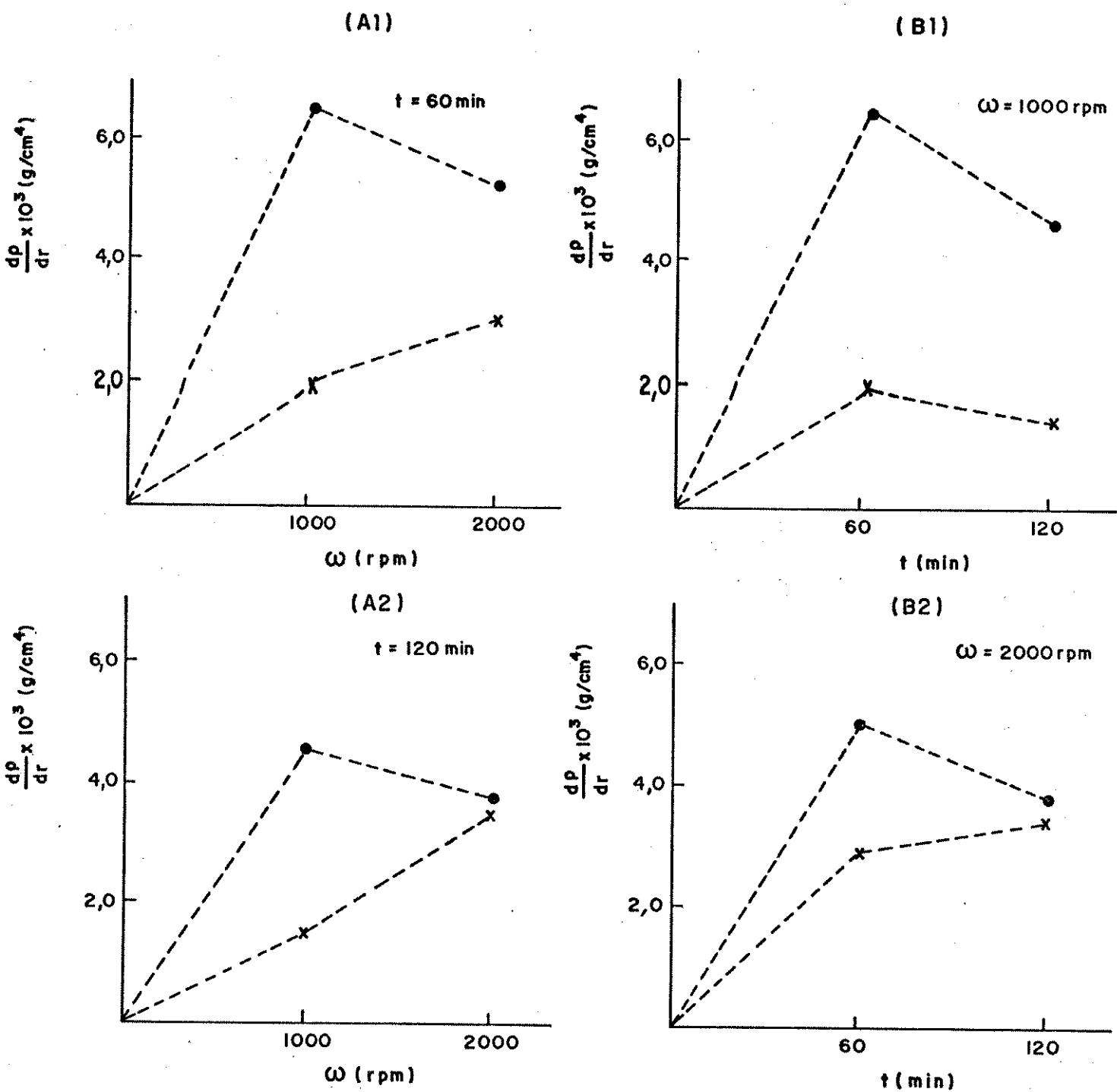


Figura 47. Gráficos de $dp/dr=f(\omega,t)$ correspondentes às experiências de ultrafiltração centrífuga (●) e osmocentrifugação (×) com solução aquosa de Ficoll 11% a 20°C.

Com os resultados obtidos nestas experiências podemos concluir que, a partir de uma mesma solução, as duas técnicas permitem gerar em forma simples e rápida gradientes de faixas de densidade e formas diferentes. Variando-se o campo aplicado é ainda possível variar o gradiente obtido. Em osmocentrifugação esse gradiente aumenta continuamente até atingir o equilíbrio; em ultrafiltração centrífuga, em tempos relativamente curtos, são gerados gradientes mais acentuados do que em tempos mais longos.

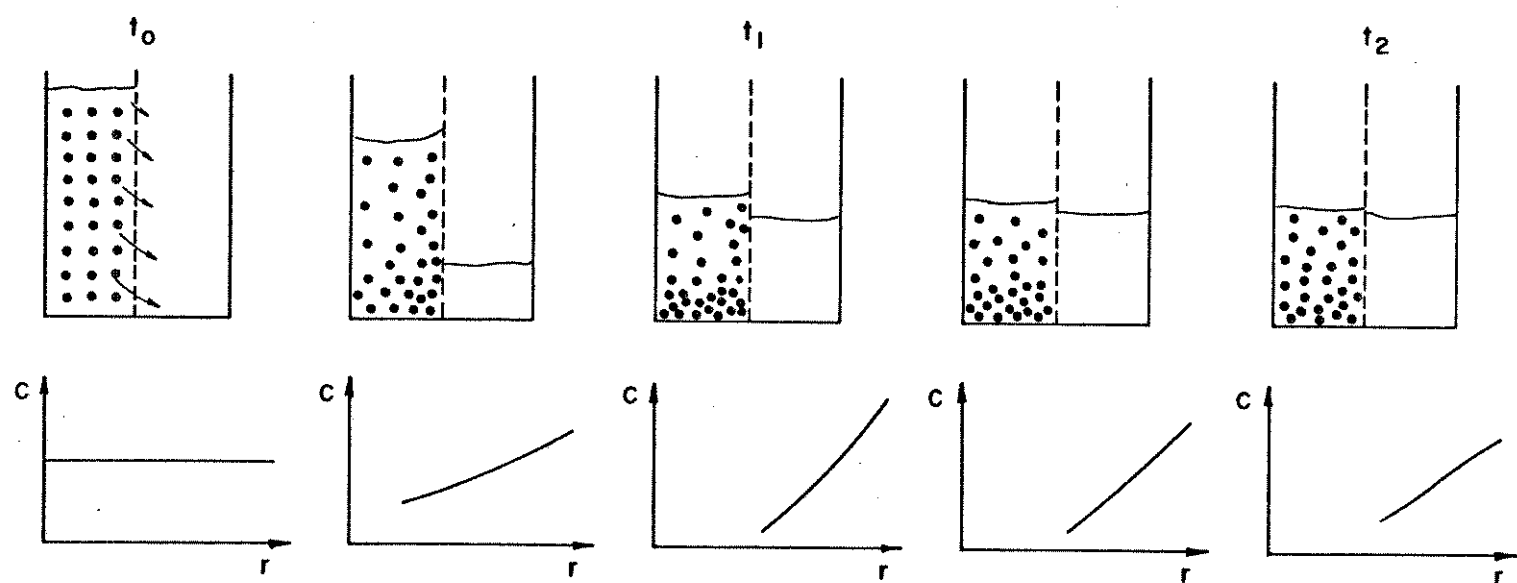


Figura 48. Esquema da formação de gradiente de concentração no processo de ultrafiltração centrífuga.

II.2.2. Verificação de atingimento de equilíbrio isopícnico.

No experimento de osmocentrifugação descrito na figura 20 foi observado que parte das partículas de uma amostra de látex de PVA, não se encontram na posição isopícnica. Este resultado deve estar relacionado com o mecanismo de transferência de massa que ocorre na célula de osmocentrifugação, que até hoje não foi totalmente compreendido, e continua sendo estudado. Um mecanismo que foi postulado (76) e que pode explicar o fenômeno observado se encontra esquematizado na figura 49: os fluxos de solvente através da membrana (setas horizontais) geram uma componente horizontal de gradiente de concentração, no compartimento da solução. Sob a ação de um campo centrífugo ocorre a convecção do líquido conforme indicado na figura 49: regiões mais densas sedimentam e regiões menos densas flutuam. Esta convecção seria capaz de arrastar partículas para posições em que a densidade do meio é superior à densidade delas, desde que essas partículas estejam contidas em um domínio, dentro da solução, cuja densidade seja superior à das próprias partículas.

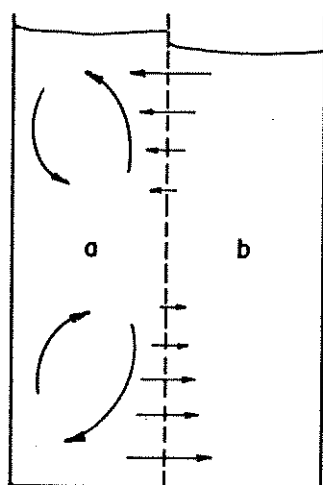


Figura 49. Esquema do mecanismo de transferência de massa numa célula de osmocentrifugação.
a: compartimento da solução
b: compartimento do solvente

A possibilidade de transferir os gradientes de Percoll gerados por osmocentrifugação para tubos de vidro resultou ser uma alternativa muito interessante pois o comportamento deles em tubo é estacionário até tempos de ordem de 15 horas de centrifugação, a 2000 rpm (Tabela VI). De outro lado foi possível obter o equilíbrio isopícnico de partículas de PVA, que foi observado de três modos diferentes:

i. A largura da banda de partículas depende do gradiente; é maior em gradientes menos acentuados (Tabela VII);

ii. A posição da banda de PVA relativa a bandas de marcadores de densidade, não mudou a partir de 10 min de centrifugação a 2000 rpm (Tabela VI), até 15 horas;

iii. A posição de frações da banda, em escala de densidade, se reproduz em gradientes diferentes (Figura 20, Tabela VIII).

II.2.3. Fracionamento de partículas.

Foi possível observar diferentes distribuições de densidade de partículas de PVA com amostras de adesivos de diferentes fabricantes. A análise por espectrofotometria no infravermelho não revelou diferenças significativas entre as frações de densidade diferentes. Por NMR foram observadas diferenças em taticidade e composição, sendo que as frações de maior densidade apresentaram maior conteúdo de polímero isotático. A fração de maior densidade mostrou conter grupos etila ligados a oxigênio e entre as frações de menor densidade provavelmente a diferença está no grau de ramificação, ou seja a de menor densidade apresenta maior conteúdo de polímero ramificado.

II.2.4. Separação de partículas.

Em experimento de osmocentrifugação foi possível separar partículas de poliestireno de partículas de PVA; a diferença de densidades (PS: 1,04-1,06 e PVA: 1,12-1,14 g/cm³) permite sua separação eficiente, como revelaram os espectros de infravermelho dos materiais após a separação.

No caso de adesivos de PVA e carbonato de cálcio só foi separado o PVA em forma pura. O sólido que sedimenta até o fundo do tubo consta de uma mistura de PVA e CaCO₃ do qual só parte do PVA pode ser separado por extração com solvente.

No caso de tinta branca a base de PVA, também foi separado o PVA em forma pura e na fração mineral foi identificado óxido de titânio, silicato de alumínio (caolin) e/ou aluminossilicato de potássio (mica). É interessante notar que neste caso, em que não há carbonato de cálcio na dispersão, também não aparece PVA na fração mineral.

Na experiência com tinta branca acrílica além de separar a fração mineral da polimérica, foi possível fracionar esta última em relação a composição do copolímero ou terpolímero. Neste caso não foi encontrado PVA na fração polimérica mas foi encontrado PVA adsorvido às partículas de CaCO₃, na fração mineral.

Os resultados obtidos permitiram a identificação de PVA, provavelmente presente como estabilizante polimérico de carbonato de cálcio.

Foi observado que só uma parte de PVA adsorvido ao carbonato de cálcio pode ser retirado por extração com solvente. A primeira provavelmente é PVA que se mantém adsorvido ao CaCO₃ na forma de látex e na presença de um solvente que dissolve o PVA essas partículas são desorvidas e dissolvidas. A parte de PVA que não é removido pelo solvente pode encontrar-se ocluído nas partí-

culas de CaCO_3 , ou na forma de cadeias individuais adsorvidas, provavelmente cadeias com maior grau de hidrólise e que podem estar iônicamente ligadas ao cálcio.

O fato de desconhecer a forma de preparação dessas dispersões não permite decidir em relação a estas possibilidades.

11.3. CONCLUSÕES

- Latexes poliméricos podem ser fracionados e caracterizados em experimentos isopícnicos; foram separadas frações de taticidade e de composição diferenciada.
- Dispersões poliméricas complexas podem também ser caracterizadas e fracionadas por centrifugação em gradiente de densidade.
- A centrifugação em gradientes de densidade é uma técnica acessível, branda, de alta resolução e rápida. Pode ser considerada como a melhor técnica de fracionamento e caracterização de dispersões coloidais sólido-líquido, multicomponentes.

III. MEMBRANAS PARA USO EM MEIOS NAO-AQUOSOS

III.1. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

Reagentes:

- Acetato de celulose, May and Baker, 54-56% de ácido acético combinado
- Acetona P.A., F. Maia S/A Ind. e Com.
- Acido acético P.A., F. Maia S/A Ind. e Com.
- Metanol absoluto, Qeel Industrias Químicas
- Ciclohexano, Carlo Erba
- Etanol absoluto, Carlo Erba
- n-butanol, Carlo Erba
- Tolueno P.A., Química e Representações VETEC
- n-octanol puro, Merk
- poli(acetato de vinila), Aldrich, padrão secundário
Lote N° 03; $\bar{M}_w = 840.000$ $\bar{M}_n = 103.000$
- poli(acetato de vinila), Aldrich, padrão secundário
Lote N° 07; $\bar{M}_w = 195.000$ $\bar{M}_n = 47.700$
- Tetrahidrofurano, Merk
- Dioxano, Carlo Erba
- Uréia, B. Herzog
- Paraformaldeído, Carlo Erba
- Carbonato de cálcio, P.A. Reagen
- Bicarbonato de sódio, P.A. Reagen

Equipamentos:

- Compressor-aspirador, modelo CA Fanem Ltda.
- Espectrofotômetro UV-visível, B-382 Micronal
- Balança Analítica, Mettler H16

- Espectrofotômetro infravermelho, Shimadzu IR-408
- Portafiltro Millipore, área de membrana 10,2 cm²
- Portafiltro de latão, área de membrana 12,7 cm²

Foram preparadas membranas de acetato de celulose a partir de solução em ácido acético-acetona-água segundo a metodologia estabelecida (94). Estas membranas foram transferidas para alguns solventes não aquosos por sucessivas transferências a soluções de água-solvente orgânico de concentração crescente (20, 50, 80 e 100% v/v); as membranas permaneceram por 8-10 horas em cada uma dessas soluções, antes de serem transferidas para a seguinte. No caso de solventes imiscíveis com água (p.ex. tolueno) elas foram primeiro transferidas de água para etanol e daí para o outro solvente, de forma análoga. Os resultados obtidos na avaliação das membranas assim obtidas, em experiências de ultrafiltração, se encontram nas Tabelas XIII e XIV.

Tabela XII. Permeabilidade de membranas de acetato de celulose de alguns solventes em ultrafiltração ($\Delta P = 2$ atm., T ambiente).

Solvente	Permeabilidade (ml/min cm ²) \pm 0,01	Viscosidade * (centipoise)
água	0,30	1,00 (20°C)
metanol	0,23	0,60 (25°C)
ciclohexano	0,15	1,02 (17°C)
etanol	0,08	1,20 (20°C)
n-butanol	0,07	2,94 (20°C)
tolueno	0,05	0,50 (20°C)
n-octanol	0,02	10,60 (15°C)

* da referência (95)

Tabela XIV. Retenção de membranas de acetato de celulose em ultrafiltração de solução de poli(acetato de vinila) em metanol ($\Delta P = 2 \text{ atm}$, T ambiente).

Soluto	Retenção (%)
PVA 03 (M = 840.000)	80-82
PVA 07 (M = 195.000)	53-65

Com o objetivo de obter membranas que se possam usar em solventes de interesse e que dissolvem o acetato de celulose (tetrahydrofurano, dioxano, acetona, etc.) tentou-se a modificação química delas com reagentes de reticulação. Os melhores resultados foram obtidos por tratamento com solução aquosa de uréia-formaldeído (12g/100 ml) a pH 9 (tampão $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$). Após 3 horas de tratamento a 65°C as membranas tornam-se insolúveis em solventes comuns de acetato de celulose.

Os espectros infravermelhos destas membranas mostraram absorções características de amidas, na região de 1500 a 1800 cm^{-1} (Figura 50), cuja intensidade aumenta com o tempo de tratamento. Estes resultados sugerem que ocorre a incorporação dos reagentes de reticulação, provavelmente por reação com os grupos -OH do diacetato de celulose.

Embora se tenha conseguido a insolubilização das membranas não foi possível utiliza-las em experiências de ultrafiltração, pois não são suficientemente resistentes, mecanicamente. Na maioria dos casos, a ruptura ocorreu nas bordas durante a filtração, em outros casos elas são danificadas durante a montagem no portafiltro. Somente num caso foi possível realizar a filtração, com dioxano, e a permeabilidade observada a 2 atm de pressão aplicada foi 0,12 ml/min cm^2 . Conclui-se que é possível reticular

as membranas sem causar uma redução drástica na sua permeabilidade.

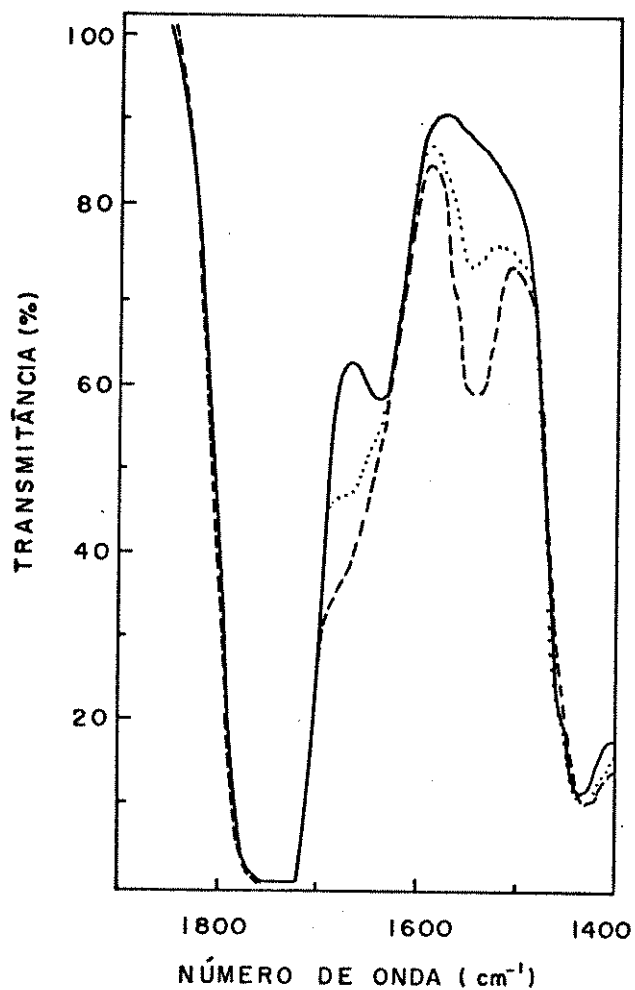


Figura 50. Espectros infravermelhos de membrana de acetato de celulose: (—) não modificada
(.....) modificada com uréia-HCHO, 26 h a 65°C
(---) modificada com uréia.HCHO, 44 h a 65°C)

III.2. DISCUSSÃO

As membranas de acetato de celulose descritas mostraram ser adequadas para uso em vários solventes (que não dissolvem o acetato de celulose), em experiências de ultrafiltração.

A permeabilidade muda com os diferentes solventes; isto é esperado pois a variação do grau de interação entre o acetato de celulose e o líquido faz com que a estrutura porosa da membrana seja alterada. De outro lado, a permeabilidade também depende da viscosidade do líquido, da pressão sobre a membrana e da sua espessura, de acordo com a relação (46):

$$J \text{ (ml/s)} = \pi R^4 \Delta p / 8 \eta l$$

onde R é o raio dos poros

Δp é a diferença de pressão através da membrana

η é a viscosidade do líquido

l é o comprimento dos poros

No caso presente, não foi observada a esperada relação entre permeabilidade e viscosidade do solvente. Admitimos que isto pudesse ser devido ao entumescimento da membrana, que pode ser previsto usando-se o parâmetro de solubilidade do polímero formador da membrana.

O parâmetro de solubilidade tridimensional (δ) fornece bastante informação sobre o grau de interação entre o material polimérico da membrana e o líquido que ela contém. Este parâmetro é composto de três partes, $\delta = \delta_d + \delta_p + \delta_h$ onde δ_d , δ_p e δ_h são as contribuições devidas a forças de dispersão, a interações polares e forças de ponte hidrogênio, respectivamente. Como δ_d é praticamente constante para substâncias orgânicas, em muitos casos é analisado o diagrama bidimensional de δ_p versus δ_h . Este diagrama, para o caso de acetato de celulose se encontra na figura 51 (97).

Observamos na Tabela XIII que a sequência de maior a menor permeabilidade praticamente coincide com a sequência de distâncias da zona de solubilidade do acetato de celulose. Ou seja, quanto mais perto se encontra o solvente da região de solubilidade no gráfico de δ_p versus δ_h , maior é a afinidade com o polímero e maior é a redução do diâmetro de poros, logo a permeabilidade é menor. Foi observada uma única exceção: segundo este modelo tolueno deve apresentar menor permeabilidade que butanol, mas foi observado o inverso.

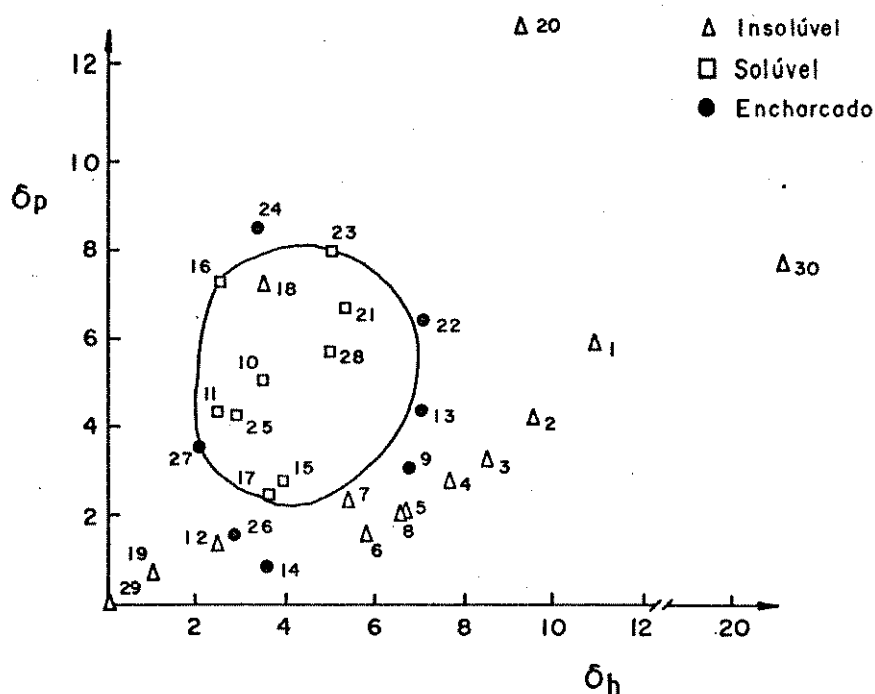


Figura 51. Diagrama de solubilidade de acetato de celulose:

(1) metanol, (2) etanol, (3) propanol, (4) butanol, (5) 1-pentanol, (6) 1-octanol, (7) 2-octanol, (8) ciclohexanol, (9) álcool benzílico, (10) acetona, (11) metil etil cetona, (12) dietil éter, (13) etilenglicol monoetil éter, (14) dioxano, (15) tetra-hidrofurano, (16) furfural, (17) etil acetato, (18) etilsulfato, (19) tolueno, (20) formamida, (21) N,N-dimetilformamida, (22) dietilentríamida, (23) dimetilsulfóxido, (24) acrilonitrila, (25) piridina, (26) clorofórmio, (27) 1,2-dicloroetano, (28) anidrido acético, (29) ciclohexano, (30) água.

IV. CONCENTRAÇÃO DE SOLUÇÕES DE POLÍMEROS SINTÉTICOS POR ULTRA-FILTRAÇÃO CENTRÍFUGA:

IV.1. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

Reagentes:

- Poli(acetato de vinila), Aldrich, padrão secundário
Lote N° 03; $\bar{M}_w = 840.000$
- Poliestireno, BDH; $\bar{M}_w = 100.000$
- Metanol absoluto, Qeol Industrias Químicas
- Tolueno P.A., Merk

Células para ultrafiltração centrífuga:

- Células de diálise de alumínio (figura 52)

Equipamentos:

- Compressor-aspirador, modelo CA Fanem Ltda.
- Densímetro, PAAR DMA 60/602
- Centrífuga refrigerada de caçapas basculantes, RC-3B
Sorvall Instruments
- Portafiltro de latão: área de membrana 12.7 cm^2

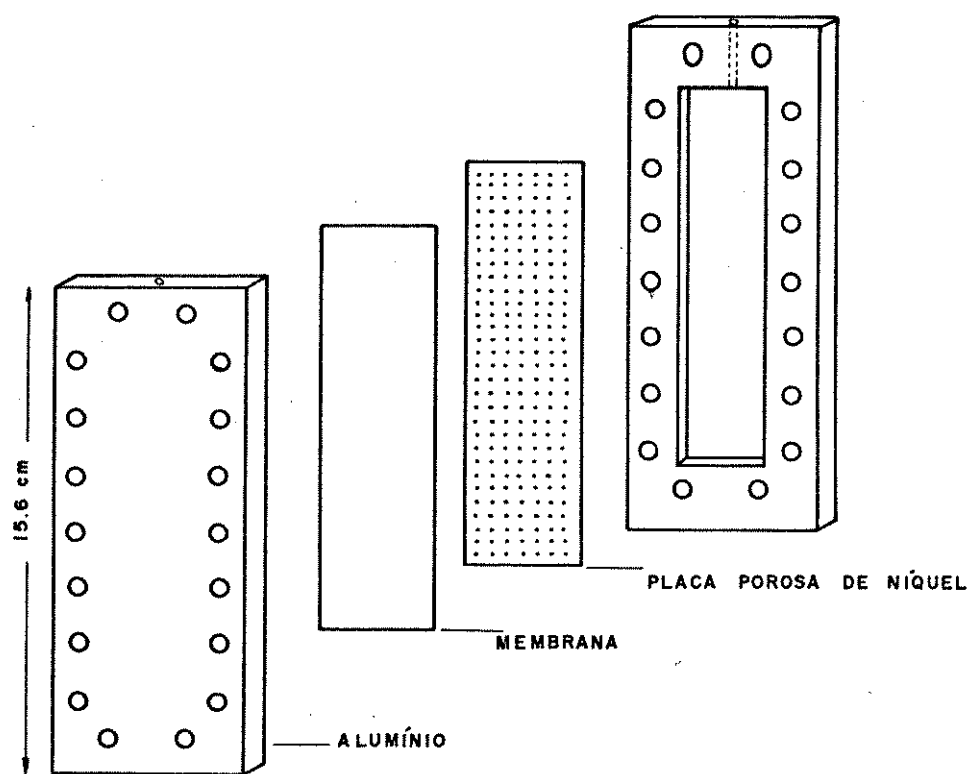


Figura 52. Representação esquemática das células de diálise, feitas em alumínio, utilizadas em experimentos de ultrafiltração centrífuga.

Foram concentradas soluções de poliestireno (PS) dissolvido em tolueno e de poli(acetato de vinila) (PVA) dissolvido em metanol e em tolueno por ultrafiltração centrífuga. Foram usadas células de alumínio com capacidade de 16-17 ml por compartimento (Figura 52).

Os resultados obtidos foram analisados usando o seguinte tratamento (88):

- Inicialmente o fluxo de solvente através da membrana (J_v) a uma distância r do eixo de rotação é dado pela expressão

$$J_v(r) = L_p \cdot \Delta P(r) \quad [18]$$

onde L_p é um coeficiente diretamente relacionado com a permeabilidade da membrana

$\Delta P(r)$ é a pressão acima da pressão atmosférica a que a solução está sujeita em cada ponto r ($r_T < r < r_B$)

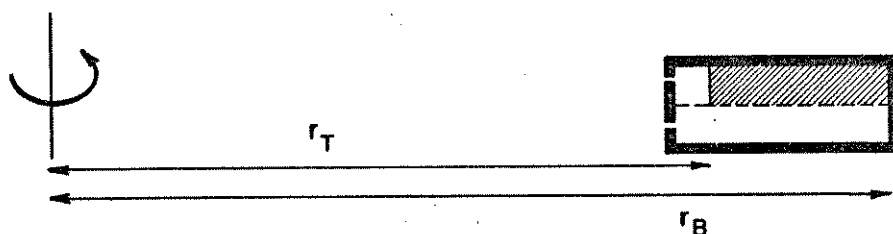


Figura 53. Esquema de uma célula de ultrafiltração centrífuga, carregada, no tempo zero.

A situação neste momento se encontra esquematizada na figura 53, e $\Delta P(r)$ é dado pela expressão

$$\Delta P(r) = \rho w^2 (r^2 - r_T^2) \quad [19]$$

onde w : é a velocidade de rotação

ρ : é a densidade da solução

- uma vez iniciado o experimento (figura 54), J_v com $\Delta P(r)$ da equação [19] vale para valores de r entre o menisco da solução ($r=r_T$) e o menisco do filtrado ($r=r_{MF}$). Para valores de r entre r_{MF} e r_B , ΔP passa a ser expresso pela equação [20]

$$\Delta P(r) = \rho w^2(r^2 - r_T^2) - \rho_1 w^2(r^2 - r_{MF}^2) - \Delta \pi \quad [20]$$

onde ρ_1 : é a densidade do solvente filtrado

$\Delta \pi$: é a pressão osmótica da solução concentrada

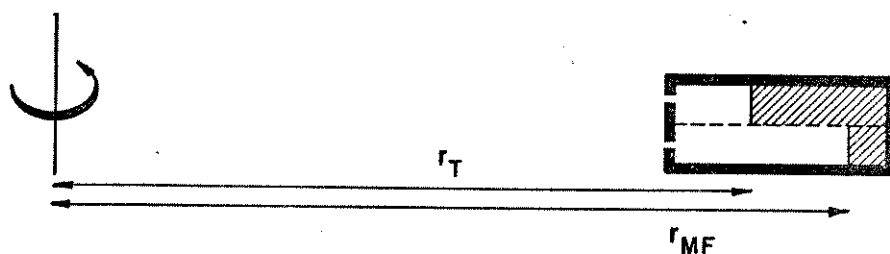


Figura 54. Esquema de uma experiência de ultrafiltração centrífuga uma vez iniciada a centrifugação.

O volume do filtrado, ϕ_v , que atravessa a membrana na unidade de tempo é

$$\phi_v = \int J_v dA \quad [21]$$

mas $A=l \times dr$, onde l é a largura da membrana

logo, introduzindo [18], [19] e [20] em [21] se obtém para

$$\phi_v = l L_p \left\{ \int_{r_T}^{r_{MF}} \rho w^2(r - r_T^2) dr + \int_{r_{MF}}^{r_B} [\rho w^2(r^2 - r_T^2) - \rho_1 w^2(r^2 - r_{MF}^2)] dr \right\}$$

onde $\Delta \pi$ foi desprezado.

Resolvendo a integral [22] temos que

$$\phi_v = 1 L_p \left\{ \frac{w^2 \rho}{3} (r_B^3 - r_T^3) - \rho w^2 r_T^2 (r_B - r_T) - \rho_1 w^2 r_B \left(\frac{r_B^2}{3} - r_{MF}^2 \right) - \frac{2}{3} \rho_1 w^2 r_{MF}^3 \right\}$$

e expressando o termo em parênteses como Y

$$\phi_v = 1 L_p Y \qquad L_p = \frac{\phi_v}{1Y} \qquad [24]$$

Nas tabelas XV, XVI e XVII se encontram o dados do tempo, volume filtrado e retenção para cada etapa de filtração com as correspondentes variações do nível de líquido dentro da célula. Os valores de L_p e ϕ_v foram calculados a partir desses resultados.

Tabela XV. Ultrafiltração centrífuga de 16 ml de solução 10,1 mg/ml de PVA em metanol.

Tempo (min)	Volume (ml)	Retenção (%)	ϕ_v (ml/s)	r_T (cm)	r_{MF} (cm)	$Y \cdot 10^{-6}$ (g/s ²)
0-5	2,8	98	0,00915	13,2	21,0	45,6
5-10	4,3	97	0,00465	14,6	19,4	29,3
10-20	6,8	98	0,00425	15,6	18,1	22,1
20-30	7,3	98	0,00075	16,4	17,0	4,0

Condições experimentais: T= 25°C, w= 2000 rpm, $r_B = 22,2$ cm,
 $\rho = 0,7953$ g/cm³, $\rho_1 = 0,7884$ g/cm³, l= 22,7 cm

Tabela XVI. Ultrafiltração centrífuga de 16 ml de solução de 5,2 mg/ml de PVA em tolueno.

Tempo (min)	Volume (ml)	Retenção (%)	ϕ_V (ml/s)	r_T (cm)	r_{MF} (cm)	$Y \cdot 10^{-6}$ (g/s ²)
0-10	1,2	96	0,00200	13,1	21,5	50,2
10-20	2,2	96	0,00167	13,7	20,6	43,6
20-30	3,0	98	0,00133	14,2	20,1	37,4
30-40	3,7	96	0,00117	14,6	19,6	32,1

Condições experimentais: $T = 25^\circ\text{C}$, $w = 2000$ rpm, $r_B = 22,2$ cm,
 $\rho = 0,86333$ g/cm³, $\rho_1 = 0,86177$ g/cm³, $l = 2,7$ cm.

Tabela XVII. Ultrafiltração centrífuga de 16 ml de solução 4,9 mg/ml de PS em tolueno.

Tempo (min)	Volume (ml)	Retenção (%)	ϕ_V (ml/s)	r_T (cm)	r_{MF} (cm)	$Y \cdot 10^{-6}$ (g/s ²)
0-10	3,4	90	0,00567	13,4	20,9	46,5
10-20	5,2	95	0,00300	15,1	18,8	24,6
20-30	6,0	97	0,00133	15,9	17,8	13,0
30-40	6,4	98	0,00067	16,2	17,4	8,3

Condições experimentais: $T = 25^\circ\text{C}$, $w = 2000$ rpm, $r_B = 22,2$ cm
 $\rho = 0,863$ g/cm³, $\rho_1 = 0,8617$ g/cm³, $l = 2,7$ cm.

Os gráficos de ϕ_v versus Y (Figura 55) mostram que a permeabilidade das membranas praticamente não varia durante a experiência; os valores de L_p calculados a partir das curvas são: em ultrafiltração de solução PVA-metanol, $7,1 \cdot 10^{11}$ cm²s/g; com solução PVA-tolueno, $1,7 \cdot 10^{11}$ cm²s/g e com PS-tolueno, $4,8 \cdot 10^{11}$ cm²s/g.

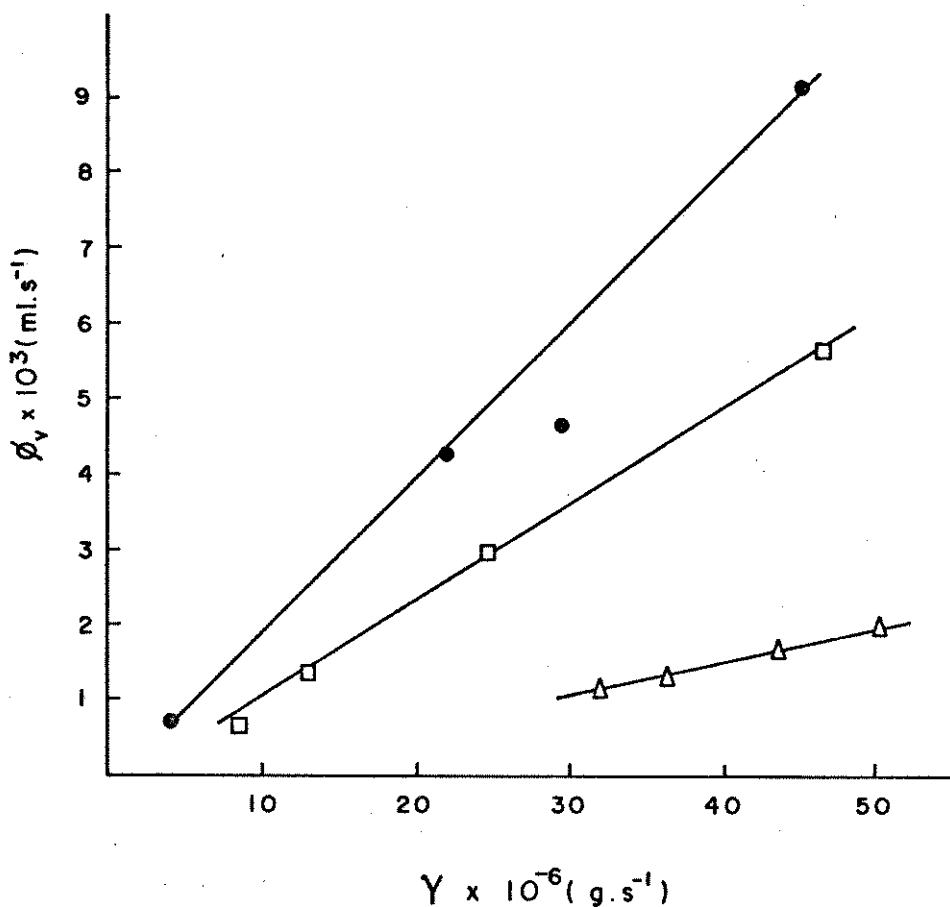


Figura 55. Gráfico de ϕ_v versus Y correspondentes a experiências de ultrafiltração centrífuga com soluções (●) PVA-metanol, (□) PS-tolueno e (△) PVA-tolueno.

Foram também realizadas experiências de concentração de soluções PVA-metanol e PS-tolueno aplicando esta técnica, por centrifugações sucessivas e retirando o filtrado em cada etapa. Os resultados são apresentados na tabela XVIII.

Tabela XVIII. Concentração de 16 ml de soluções de PVA-metanol 10,1 mg/ml e PS-tolueno 4,9 mg/ml, por ultrafiltração centrífuga ($w = 2000$ rpm, $T = 25^{\circ}\text{C}$).

Solução	Tempo de centrifugação	Volume de Filtrado (cm^3)	Cc/Ca	Retenção (%)
PS/to-	4 x 25 min	10,5	2,9	94
lueno	4 x 25 min	11,3	3,6	97
PVA/me-	3 X 20 min	12,4	3,9	94
tanol	3 x 20 min	12,4	4,1	98

Cc: Concentração do concentrado

Ca: Concentração da solução de alimentação

Os resultados obtidos na concentração de soluções de PVA e PS por ultrafiltração convencional se encontram na Tabela XIX. Nestas experiências foram usadas membranas do mesmo lote das usadas em ultracentrifugação centrífuga.

$$\text{Neste caso } L_p = \frac{q}{A\Delta P}$$

onde A é a área da membrana

ΔP é a pressão aplicada

Tabela XIX. Ultrafiltração de solução PVA-metanol 10,1 mg/ml , PVA-tolueno 5,2mg/ml e PS-tolueno 4,9 mg/ml (área de membrana = 12,7 cm², ΔP= 2 atm, T= 25°C).

Solução	Tempo de filtrado (min)	Volume de filtrado (ml)	Retenção (%)	Lp · 10 ⁴ (cm ² s/g)
PVA/me-	15	2,0	80	8,6
tanol	52	4,0	94	3,5
PVA/to-	18	2,5	92	8,8
lueno	56	5,0	94	4,3
PS/to-	15	3,0	82	13,0
lueno	32	5,0	92	7,6

Temos para cada solução os dados de volume de filtrado, retenção e permeabilidade da membrana correspondente a dois tempos sucessivos. Nos três casos a retenção aumenta e a permeabilidade cai rapidamente durante a filtração. Isto se deve à polarização da concentração e a compactação da membrana.

IV.2. DISCUSSÃO

Os resultados apresentados mostram que a técnica de ultrafiltração centrífuga é muito conveniente para concentração e/ou purificação de soluções poliméricas. Não há necessidade de agitação ou circulação do líquido para diminuir o efeito da polarização da concentração e pressões altas são conseguidas sem nenhum risco. Por exemplo com solução 4.9 mg/cm^3 de PS em tolueno no início da experiência a pressão calculada no fundo da célula é 12.5 atm.

Outro ponto importante é que, em ultrafiltração centrífuga o polímero não é danificado por cisalhamento como no caso de ultrafiltração com agitação. Os dados obtidos mostram também que o desempenho da membrana quanto a permeabilidade e retenção é praticamente constante com o tempo de filtração, pois a compactação da membrana ocorre em muito menor grau do que em ultrafiltração convencional. Nesta, a pressão é aplicada perpendicularmente à membrana. Isto pode ser entendido pensando que não há acúmulo de soluto sobre a membrana que seja forçado a atravessá-la, já que o soluto retido é transferido para o fundo da célula por convecção (Figura 56).

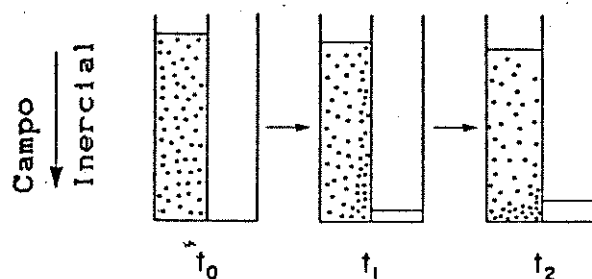


Figura 56. Esquema de transferência do soluto acumulado nas vizinhanças da membrana para o fundo da célula.

REFERÊNCIAS

- (1) C.A. Price, "Centrifugation in Density Gradients", Academic Press, New York, 1982.
- (2) M.K. Brakke, J. Am. Chem. Soc., 73, 1847 (1951).
- (3) C.J. Avers, A. Szabo e C.A. Price, J. Bacteriol., 100, 1041 (1969).
- (4) Ficoll-Paque for "in vitro" isolation of lymphocytes, Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Trykkontakt (1983).
- (5) H. Pertoft, T.C. Laurent, T. Laas e L. Kagedal, Anal. Biochem., 88, 271 (1978).
- (6) M. Meselson F.W. Stahl e J. Vinegrad, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 43, 581 (1957).
- (7) C. de Duve, J. Berthet e H. Beaufay, Prog. Biophys. Biophys. Chem., 9, 325 (1959).
- (8) H. Lange, Colloid and Polym. Sci., 258, 1077 (1980).
- (9) W. Maechtle, Colloid and Polym. Sci., 262, 270 (1984).
- (10) S.P. Nunes e F. Galembeck, Anal. Biochem., 146, 48 (1985).
- (11) O. Kratky, H. Leopold e H. Stabinger, Angew. Phys., 27, 273 (1969).
- (12) H. Beavers, Soil Sci. Soc. Proc., 25, 357 (1961).
- (13) R. Buchdahl, H.A. Ende e L.H. Peebles, J. Phys. Chem., 65, 1468 (1961).
- (14) R. Buchdahl, H.A. Ende e L.H. Peebles, J. Polym. Sci. C1, 153 (1963)
- (15) C.J. Stacy, J. Appl. Polym. Sci., 21, 2231 (1977).
- (16) H.A. Ende e V. Stannett, J. Appl. Polym. Sci. Part A, 2, 4047 (1964).
- (17) R.G. Martin e B.N. Ames, J. Biol. Chem., 236(5), 1372 (1961).

- (18) R.C. McEwen, *Anal. Biochem.*, 20, 114 (1967).
- (19) C.W. Dingman, *Anal. Biochem.*, 49, 124 (1972).
- (20) B.D. Young e R. Krumlauf, *Anal. Biochem.*, 115, 97 (1981).
- (21) B.S. Bishop, *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 21, 175 (1966).
- (22) C.W. Schmidt e J. Hearst, *J. Mol. Biol.*, 44, 143 (1969).
- (23) E. Daniel, *Biopolymers*, 7, 359 (1969).
- (24) F.W. Studier, *J. Mol. Biol.*, 11, 373 (1965).
- (25) J.L. Rendón e M. Calcagno, *Experientia*, 41, 382 (1985).
- (26) B.V. Deryaguin e L. Landau, *Acta Phys. Chim. U.R.S.S.*, 14, 633 (1941); *JETP (USSR)* 15, 633 (1945).
- (27) E.J.W. Vorwey e J.Th.G. Overbeck, "Theory of the Stability of Lyophobic Colloids", Elsevier, Amsterdam, 1948.
- (28) I.E. Dzyaloshinskii, E.M. Lifshitz e L.P. Pitawskii, *Adv. Phys.*, 10, 165 (1961).
- (29) J. Mahanty e B.W. Ninham, "Dispersions Forces", Academic Press, London, 1976.
- (30) J.N. Israelachvili e B.W. Ninham, *J. Colloid. Interface Sci.*, 58, 14 (1977).
- (31) J.N. Israelachvili e D. Tabor, *Prog. Surface Membrane Sci.*, 7, 1 (1973).
- (32) D. Chan, T.W. Healy e L.R. White, *J.C.S. Faraday I*, 72, 2844 (1976).
- (33) B.W. Ninham e V.A. Parsegian, *J. Theor. Biol.*, 31, 405 (1971).
- (34) G.D. Parfitt e N.H. Picton, *Trans. Far. Soc.*, 64, 1955 (1968).
- (35) M. van der Waarden, *J. Colloid Interface Sci.*, 5, 317 (1950).
- (36) D. Tabor e R.H.S. Winterton, *Proc. Roy. Soc. London, A* 312, 435 (1969).

- (37) J.N. Israelachvili e D. Tabor, Proc. Roy. Soc. London, A 331, 19 (1972).
- (38) J.N. Israelachvili e G.E. Adams, Nature, 262, 774 (1976).
- (39) J.N. Israelachvili e G.E. Adams, J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1., 74, 975 (1978).
- (40) J. Klein, Nature, 288, 248 (1980).
- (41) J. Klein, Adv. Colloid Interface Sci., 16, 101 (1982)
- (42) Y. Almog e J. Klein, J. Colloid Interface Sci., 106, 33 (1985).
- (43) J.N. Israelachvili, R.K. Tandon e L.R. White, J. Colloid Interface Sci., 78, 430 (1980).
- (44) D.H. Napper "Polymeric Stabilization of Colloidal Dispersions", Academic Press, London, 1983.
- (45) T. Sato e R. Ruch "Stabilization of Colloidal Dispersions by Polymer Adsorption", Marcel Dekker, New York, 1980.
- (46) W.D. Harkins, J. Chem. Phys., 14, 47 (1946).
- (47) W.V. Smith e R.H. Ewart, J. Chem. Phys., 16, 592 (1948).
- (48) D.C. Miles e J.H. Briston, "Tecnologia dos Polimeros", Editora Polígono S.A., São Paulo, 1975.
- (49) Encyclopedia of Polymer Science and Technology, Interscience Publishers, New York, Vol. 8, pg. 164 (1968) e Vol. 12, 300 (1970).
- (50) R.A. Kaysam Corp; U.S. Pat. 1.998.986 (1935).
- (51) F. Rodríguez, "Principles of Polymer Systems", Mc Graw-Hill Book Company, New York, 1982.
- (52) J.C. Giddings, Sep. Sci., 1, 123 (1966)
- (53) J.C. Giddings, J. Chem. Educ., 50, 667 (1973).
- (54) J.C. Giddings, L.K. Smith e M.N. Myers, Anal. Chem., 47, 2389 (1975).
- (55) L.K. Smith, M.N. Myers e J.C. Giddings, Anal. Chem., 49,

- 1750 (1977).
- (56) K.D. Caldwell, L.F. Kesner, M.N. Myers e J.C. Giddings, *Science*, 176, 296 (1972).
- (57) J.C. Giddings, F.J.F. Yang e M.N. Myers, *Sep. Sci.*, 10, 133 (1975).
- (58) J.C. Giddings, F.J.F. Yang e M.N. Myers, *Anal. Chem.*, 46, 1917 (1974).
- (59) F.J.F. Yang, M.N. Myers e J.C. Giddings, *Anal. Chem.* 46, 1924 (1974).
- (60) G. Belfort, "Synthetic Membranes Processes", Academic Press Inc., Orlando, 1984.
- (61) M.C. Porter, "Membrane Filtration" em *Techniques for Chemical Engineers*, McGraw-Hill, New York, 1979.
- (62) W. Pusch e A. Walch, *Desalination*, 35, 5 (1980).
- (63) W. Pusch e A. Walch, *J. Membr. Sci.*, 10, 325 (1982).
- (63a) A.R. Cooper, *Chem. in Brit.*, Sept. 1984, pg. 814.
- (64) H.K. Lonsdale, *J. of Membr. Sci.*, 10, 81 (1982).
- (65) H. Strathmann, *J. Membr. Sci.*, 9, 121 (1981).
- (66) W. Push e A. Walch, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 21, 660 (1982).
- (67) K.C. Channabasappa, *Desalination*, 23, 495 (1977).
- (68) M.C. Porter e L. Nelson, *Recent Develop. Soper. Sci.*, 2, 227 (1972).
- (69) R.C. Lacey e S. Loeb em "Industrial Processing with Membranes", Wiley Interscience, New York 1972.
- (70) F. Kill, *Acta Chim. Scand.*, 253, 142 (1960).
- (71) S. Loeb e S. Sourirajan, *Advan. Chem. Ser.*, 38, 117 (1962).
- (72) L.T. Rozelle, J.E. Cadotte, W.L. King, A.J. Senechal e B.R. Nelson, *Res. and Develop. Progr. Rept.*, 659 (1973).
- (73) R.L. Riley, H.K. Lonsdale e C.R. Lyons, *J. Appl. Polym.*

- Sci., 15, 1267 (1966).
- (74) T. Svedberg e K.O. Pedersen, "The Ultracentrifuge", Johnson Reprint Co., New York.
- (75) S.P. Nunes, A.T.N. Pires e F. Galembeck, *Chemica Scripta*, 23, 233 (1984).
- (76) F. Galembeck e A.T.N. Pires, *Sep. and Purif. Methods*, 15(2), 97 (1986).
- (77) I. Joekes e F. Galembeck, *J. Colloid Interf. Sci.*, 104(2), 311 (1985).
- (78) A.T.N. Pires, S.P. Nunes e F. Galembeck, *J. Colloid. Interface Sci.*, 98(2), 489 (1984).
- (79) F. Galembeck, P.R. Robilotta, E.A. Pinheiro, I. Joekes e N. Bernardes, *J. Phys. Chem.*, 84, 112 (1980).
- (80) V.L. Vilker, *AIChE J.*, 27, 637 (1981).
- (81) H. Strathman, *Chem. Ing. Techn.*, 44, 1160 (1972).
- (82) P. Dymek e B. Hallstrom, em "Advances in Preconcentration and Dehydration of Foods" (A. Spicer ed.), Applied Sci. Publishers, 1974.
- (83) K.S. Spiegler e J.H. Macleish, *J. Membr. Sci.*, 8, 193 (1981).
- (84) F. Forbes, *Prod. Finish.*, 23(11), 24 (1970).
- (85) D. Kirjassoff, S.D. Pinto e C. Hoffman, *Chem. Engr. Prog.*, 58 (1980).
- (86) S.E. Charm e C.J. Lai, *Biotechnol. Bioeng.*, 13, 185 (1971).
- (87) F. Boerner, *Am. J. Clin. Tech. Suppl.*, 6, 68 (1942).
- (88) S.P. Nunes, Tese Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 1985.
- (89) K.C. Ramey e N.D. Field, *J. Polym. Sci. Part B3*, 69 (1965).
- (90) I. Ya. Slonim e A.N. Lyubimov, "The NMR of Polymers", pg. 217, Plenum Press, New York 1970.

- (91) Encyclopedia of Polymer Science and Technology, Interscience Publishers, New York, Vol.15, pg.617, (1975).
- (92) K.E. Isakson, "Infrared Spectroscopy: Its use in the Coating Industry" (Federation of Societies for Paint Technology, Ed.), Philadelphia 1969.
- (93) Referência 91, Vol.15, pg.657.
- (94) S.P. Nunes e F. Galebeck, J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed., 21, 49 (1983).
- (95) Handbook of Chemistry and Physics, 60th Ed., CRC Press 1980.
- (96) A.A. Blumberg J. Chem. Ed., 63(5), 414 (1986)
- (97) A.S. Chawla e T.M.S. Chang, J. Appl. Polym. Sci., 19, 1723 (1975).