

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Fernando Galembek  
in honor

Prof. Dr. Sérgio T. S. Aguiar

Química, 23 de fevereiro 1983.



MEMBRANAS ASSIMÉTRICAS DE ACETATO  
DE CELULOSE PARA OSMOSSEDIMENTAÇÃO  
E ULTRAFILTRAÇÃO

SUZANA PEREIRA NUNES  
TESE DE MESTRADO

ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO GALEMBECK

CAMPINAS

1983

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

*A meus pais.*

## AGRADECIMENTO

Não se pode dizer que esta tese seja fruto de um único autor. Sua conclusão é o resultado da contribuição de pessoas e instituições que estiveram presentes em cada uma de suas etapas, às quais se torna imprescindível agradecer:

ao Prof. Dr. Fernando Galembeck, pela brilhante orientação, pelas idéias, críticas e sugestões objetivas e sempre oportunas e pelo apoio nos momentos de decisão;

à FAPESP e à CAPES pelas bolsas concedidas;

ao CNPq, FINEP e FAPESP por financiarem o projeto;

ao Prof. Dr. Nilso Barelli, pela maneira solícita com que colaborou na microscopia eletrônica;

à irrepreensível datilografia do Sr. William;

a todos os funcionários que com dedicação e boa vontade cooperaram para a realização do trabalho;

aos companheiros do grupo, que ultrapassaram o convívio profissional para serem amigos em todas as horas.

## ÍNDICE

	<u>Página</u>
RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Tecnologia de membranas .....	1
1.1.1. Processos de separação .....	1
- microfiltração .....	1
- osmose reversa .....	4
- ultrafiltração .....	6
1.1.2. Outras aplicações .....	6
1.2. Membranas assimétricas .....	7
1.3. Membranas impregnadas .....	8
1.4. Processos de permeação .....	9
1.5. Ultrafiltração .....	10
1.6. Osmossedimentação .....	14
1.7. Objetivo .....	17
2. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS .....	19
2.1. Materiais e equipamento .....	19
2.2. Membranas assimétricas de acetato de celulose .	20
2.2.1. Preparação das membranas .....	20
2.2.2. Avaliação do acetato de celulose usado	
na preparação das membranas .....	20
- espectros vibracionais no infravermelho .....	21
- determinação da viscosidade intrínseca .....	26
2.2.3. Caracterização das membranas de acetato	
de celulose quanto a fluxo de água (a 1	
metro de água e retenção em células de	
diálise) .....	29
- medida de resistência ao fluxo de água	
(a 1 metro de água) .....	29
- medidas de retenção em célula de diálise .....	31
- primeiras modificações na preparação	
das membranas .....	33

- efeito da variação da composição da mistura solvente .....	34
- efeito da variação da proporção de ace- tato de celulose .....	38
2.2.4. Ensaio de ultrafiltração .....	39
2.2.4.1. Caracterização a pressões de 0,5 a 2,0 atm .....	39
2.2.4.2. Variação da composição da mistu- ra solvente .....	44
- compactação das membranas ...	44
- variação de fluxo e retenção com a pressão .....	46
- influência do tratamento tér- mico .....	49
- fluxo de permeante e retenção de solutos de vários pesos mo- leculares .....	50
2.2.4.3. Influência do tempo de evapora- ção do solvente na preparação da membrana .....	51
2.2.4.4. Influência da espessura do fio de níquel-cromo na preparação da membrana .....	54
2.2.5. Impregnação de membranas de acetato de ce- lulose com precipitados inorgânicos ....	57
2.2.6. Microscopia óptica e eletrônica .....	59
2.2.7. Estimativa de erros .....	68
2.3. Osmossedimentação .....	69
2.3.1. Osmossedimentação de dextrana azul ....	75
2.3.2. Osmossedimentação de gamaglobulina ....	84
3. DISCUSSÃO .....	89
4. CONCLUSÃO .....	108
5. BIBLIOGRAFIA .....	111

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo principal a obtenção de membranas com características adequadas para osmossedimentação de proteínas e outros solutos macromoleculares. Foi investigada a influência de diversos parâmetros na preparação das membranas: tempo de evaporação do solvente, espessura total do filme, concentração do acetato de celulose e composição da mistura solvente. As membranas obtidas foram caracterizadas quanto a fluxo e retenção em ensaios de ultrafiltração e a sua estrutura foi observada em microscópios óptico e eletrônico. O ajuste dos diversos parâmetros relevantes na preparação possibilitou a obtenção de membranas adequadas à retenção de solutos de diferentes pesos moleculares, que puderam ser utilizadas de maneira satisfatória em experimentos de osmossedimentação de dextrana azul e gamaglobulina.

## ABSTRACT

The objective of this work is the obtention of membranes with suitable characteristics for osmosedimentation of proteins and other macrosolutes. The influence of several factors on the membranes preparation was investigated: solvent evaporation time, total film thickness, cellulose acetate concentration and solvent mixture composition in the casting solution. The membranes behavior in ultrafiltration experiments was examined. Their permeability and selectivity were determined and their structures were observed by optical and scanning electron microscopy. By appropriate choice of preparation conditions, suitable membranes with different solute molecular weight cut-offs were obtained, which showed good performance in osmosedimentation experiments with blue dextran and gammaglobulin.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Tecnologia de Membranas

O termo membrana se refere a uma interface entre 2 regiões de fluidos, sendo condição indispensável que esta interface aja como uma barreira parcial (1) ao transporte entre elas.

A tecnologia de membranas vem sendo adotada de maneira extremamente acelerada em um número crescente de processos, onde desempenham as mais diversas aplicações, desde a dessalinização de água e a recuperação de refugo industrial até os mais sofisticados processos biomédicos como, por exemplo, a hemodiálise.

Estima-se (2), que o mercado mundial de membranas até 1950 era menor que 5 milhões de dólares anuais, enquanto que o mercado atual excede 500 milhões de dólares anuais. Lonsdale (2) avalia as proporções dos vários segmentos da indústria relacionada a membranas em 1981, conforme mostrado na Tabela 1.

#### 1.1.1. Processos de Separação

Os principais processos de separação que utilizam membranas podem ser classificados, levando em consideração a menor partícula ou molécula retida pela membrana em questão (3,4), conforme indicado na Figura 1.

#### MICROFILTRAÇÃO

A microfiltração é utilizada para partículas maiores que 500 Å de diâmetro, geralmente a pressões de 0,3 a 3,0 atm. Aplicações de membranas deste tipo incluem ensaios bacteriológicos, filtração esterilizada (pré-tratamento para engarrafamento

TABELA 1. Mercado mundial de membranas.

Indústria	Mercado (milhões de dólares/ano)
1. Microfiltração	> 150
2. Diálise, incluindo hemo- diálise	200
3. Eletrodiálise	35
4. Osmose reversa	100
5. Ultrafiltração	50
6. Separação de gases, incluindo pulmões de membrana	10-15
7. Eletrodos	10
8. Liberação controlada	> 100
9. Outras	> 30

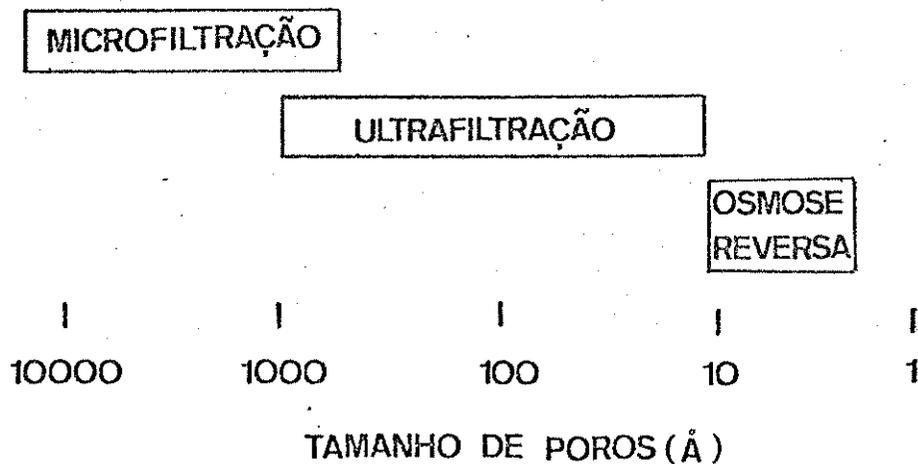


FIGURA 1. Classificação dos processos de separação quanto às dimensões de poro das membranas utilizadas.

de líquidos farmacêuticos, cerveja pasteurizada, etc.)(2). Membranas para estes fins são fornecidas atualmente por firmas, tais como (2,5) Millipore Corp., Gelman Sciences, Inc., Amicon Corp., Puro pore Inc., Whatman Co., Oxoid Ltd. na Inglaterra, Schleicher and Schuell, na Alemanha e Estados Unidos, Toyo Roshi International Inc. no Japão e Sartorius-Membranfilter GmbH na Alemanha, que foi a pioneira neste campo, em 1929.

Membranas para microfiltração eram preparadas, inicialmente, coagulando um filme de nitrato de celulose-acetato de celulose exposto à umidade. Atualmente, são usados outros materiais, tais como poliamida, poli (cloreto de vinila), copolímeros acrílicos, etc. Outros métodos para a preparação de membranas para microfiltração foram também desenvolvidos. A membrana Nuclepore (2,4,5,6), por exemplo, é preparada por um processo de irradiação de um filme de policarbonato com partículas  $\alpha$  e posterior cauterização química, o que provoca a formação de poros de tamanhos muito bem definidos, na faixa de 0,03 a 8  $\mu\text{m}$ . São utilizadas, devido a estas qualidades, em classificação de tamanho de partículas, análises microscópicas, etc.

A membrana Celgard (2) da Celanese Corp. consiste em um filme de polipropileno exposto a consecutivas etapas de estiramento a frio e a quente, induzindo uma série de microrrachaduras. Este tipo se enquadra preferencialmente em ultrafiltração (poros de 0,02 a 0,04  $\mu\text{m}$ ) e se aplica em oxigenadores de sangue, separadores permeáveis a íons em baterias avançadas, etc.

Outro novo tipo de membrana é a Gore-Tex (2), obtida por estiramento de politetrafluoroetileno (PTFE). É um material extremamente inerte usado em filtração para esterilização.

## OSMOSE REVERSA

No processo de osmose reversa, uma pressão é aplicada para inverter o fluxo normal de água através de uma membrana semipermeável. A direção "normal" da água através de uma membrana é da solução menos concentrada no soluto para a de maior concentração (2).

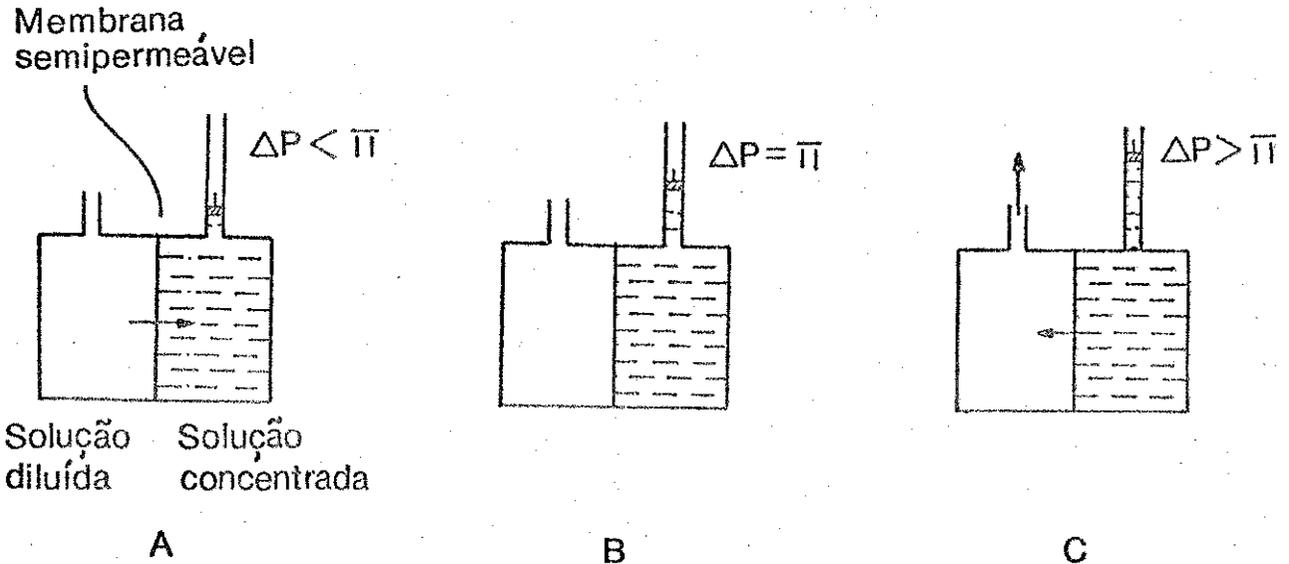


FIGURA 2. Fenômenos de (a) osmose, (b) equilíbrio osmótico e (c) osmose reversa (2).

Membranas de osmose reversa são capazes de reter espécies iônicas como NaCl ou  $MgSO_4$ . As pressões são da ordem de 10 a 100 atm (3) e baixos fluxos de permeato são obtidos ( $< 0,05 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{dia} \cdot \text{atm}$  contra  $> 1 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{dia} \cdot \text{atm}$  para microfiltração).

Os primeiros trabalhos relacionados a este processo foram realizados por Charles E. Reid (2,7,8) durante a década de 50 e a técnica recebeu grande impulso a partir de 1960 com o advento da membrana assimétrica, desenvolvida por Loeb e Sourirajan (9,10). Membranas para osmose reversa são constituídas, principalmente, de ésteres de celulose, além de materiais tais

como poliamidas aromáticas e poliimidas. As aplicações da osmo se reversa abrangem desde o controle de poluição ao processamento de alimentos. Mas, sem dúvida, sua maior importância se deve à possibilidade de dessalinização de água, com consumo mínimo de energia. Gregor (11) avalia que, para extrair um metro cúbico de água pura do mar, é requerido um mínimo teórico ou termodinâmico de energia de 0,8 quilowatt-hora. A energia consumida em dessalinização por membrana é de aproximadamente 3,5 quilowatt-hora por metro cúbico, enquanto que num processo de destilação são necessários, 627 quilowatt-hora, dos quais somente parte pode ser recuperada por trocadores de calor (11). Lonsdale (2) apresenta dados reais em uma comparação entre diversas tecnologias de dessalinização de água.

TABELA 2. Energia consumida, qualidade da água produzida e recuperação prática da água, supondo água de alimentação 1% em peso (2).

	Energia consumida $\frac{\text{kw-hr}}{\text{m}^3 \text{H}_2\text{O}}$	Qualidade da água obtida (ppm)	Recuperação (%)
Destilação "Flash"	37	5	25
Destilação por compressão de vapor	24	5	57
Eletrodialise	10,5	500	33
Osiose reversa	5,2	150	50

O sucesso atual da osiose reversa se deve ao desenvolvimento de membranas, cuja seletividade permite a dessalinização em um só passo e à utilização de membranas de acetato de celulose na forma de fibras ocas (12), que permitem a construção de mó

dulos de membrana com relação área efetiva/volume extremamente alta. Na década de 70 foram instaladas, operando satisfatoriamente, plantas de dessalinização, produzindo 44 mil m<sup>3</sup>/dia na Argêlia e 64 mil m<sup>3</sup>/dia na Arábia Saudita. A maior planta de dessalinização deve ser construída até o meio desta década, no Arizona, para dessalinizar a água com conteúdo salino de 300 ppm. A planta dessalinizará 400 mil m<sup>3</sup>/dia (2,5). Este volume excede o consumo diário de água na cidade de Campinas, que é de 200 mil m<sup>3</sup> (13).

## ULTRAFILTRAÇÃO

Membranas de ultrafiltração são geralmente usadas para reter macromoléculas em solução como, por exemplo, proteínas (M=3000 a 300.000), carboidratos, etc. Pressões moderadas, de 1 a 10 atmosferas são utilizadas e são obtidos fluxos da ordem de 0,1-0,5 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.dia.atm. Este processo será posteriormente discutido com maior profundidade.

### 1.1.2. Outras Aplicações

Além dos processos descritos acima, existem ainda inúmeras outras aplicações de membranas. Membranas Cuprophan e de policarbonato são utilizadas em hemodiálise (2,14) (rim artificial). Eletrodiálise utiliza membranas seletivamente permeáveis a íons para dessalinização (2). Pulmões artificiais de borracha de silicone são utilizados, durante cirurgias para suprir O<sub>2</sub> à corrente sanguínea e remover CO<sub>2</sub> (2,5). Outro interessante uso de membranas é a liberação controlada (2,14), isto é, o controle da velocidade com que substâncias são liberadas para o seu ambiente, através de encapsulamento: pesticidas na a-

gricoltura, hormônios no controle de natalidade, feromônios para atração de insetos, etc. Entretanto, toda a tecnologia descrita acima seria totalmente inviável sem o desenvolvimento de membranas que se adequassem exatamente a cada finalidade.

## 1.2. Membranas Assimétricas

O estabelecimento da ultrafiltração e osmose reversa como processos industriais competitivos se deve ao desenvolvimento de membranas assimétricas por Loeb e Sourirajan no fim da década de 50 (9,10).

O termo "membrana assimétrica" se refere a uma barreira polimérica sintética com duas ou várias camadas, cuja pele fina e densa e espessa subestrutura porosa permitem separações mais rápidas e eficientes que aquelas obtidas com filmes densos de mesma espessura (15). O termo "assimétrica" restringe-se, por convenção, a membranas cuja pele e subestrutura são formadas simultaneamente a partir de uma única solução de polímero.

Devido à espessura (da ordem de  $10^{-4}$  mm) e porosidade extremamente fina da camada filtrante, tais membranas apresentam permeabilidades surpreendentes, acopladas com a capacidade de reter solutos extremamente pequenos. Por outro lado, a espessura da camada mais porosa fornece à membrana uma resistência mecânica capaz de suportar pressões relativamente altas. Outra vantagem da estrutura assimétrica seria minimizar a obstrução dos poros da membrana pelos solutos por ela retidos. Isto porque qualquer partícula pequena o suficiente para entrar em um microporo da camada filtrante, facilmente, atravessaria a camada suporte, sem obstruir o poro (16).

O procedimento original e as modificações subsequentes

para preparação de membranas assimétricas foram derivados basicamente de considerações empíricas (17) e seguem quatro etapas essenciais:

- (a) Dissolução do polímero em mistura solvente adequada.
- (b) Espalhamento da solução na forma de um filme fino.
- (c) Evaporação parcial do solvente.
- (d) Coagulação do filme em um não solvente, miscível com a mistura solvente.

Ajustando a composição da solução e controlando as condições de preparação, membranas assimétricas podem ser obtidas com diferentes texturas e distribuições de poros. Vários polímeros, além do acetato de celulose vêm sendo usados, aumentando a versatilidade destas membranas.

### 1.3. Membranas Impregnadas

Provavelmente, uma das primeiras membranas sintéticas, para ultrafiltração, foi introduzida por Moritz Traube (18), em 1867, que precipitou ferrocianeto de cobre em porcelana. Ultrafiltros obtidos por impregnação de porcelana tinham grande resistência mecânica, mas eram excessivamente espessos para oferecerem uma permeabilidade satisfatória. Já na década de 20, foram preparadas membranas mais finas, impregnando-se ferrocianeto de cobre em filmes de colódio (19,20,21).

Desde então, inúmeros materiais vêm sendo investigados no aperfeiçoamento de membranas formadas a partir de precipitados inorgânicos. Por exemplo, preparam-se membranas a partir de sulfato de bário em celofane (22), tungstato de tório (23), ferrocianeto e ferricianeto de cromo (24), cromato de chumbo (25) e um grande número de outros precipitados (26).

Um outro tipo análogo de membranas é a chamada "membrana dinâmica" (27,28). Esta membrana é obtida pela deposição de, por exemplo, óxido de zircônio e/ou poli(ácido acrílico), a partir de uma solução que circula sob pressão através de um substrato finamente poroso. Membranas assim preparadas encontraram aplicação na ultrafiltração de refugos em processamento de corantes têxteis (2), principalmente devido à sua estabilidade a altas temperaturas. Entretanto, a permeabilidade e retenção não são reprodutíveis.

Recentemente, Kurokawa e Ueno (29) publicaram trabalho relatando a impregnação de membranas assimétricas de acetato de celulose com precipitados inorgânicos hidratados (óxidos de ferro ou cromo e cromato ou molibdato de níquel).

A impregnação de substratos porosos provoca a obstrução parcial dos poros, diminuindo seu tamanho efetivo, mas seu principal efeito é a introdução de cargas no substrato, o que torna a membrana de particular interesse para a retenção de eletrólitos. O uso de membranas assimétricas como substrato favorece a obtenção de permeabilidades relativamente altas, devido à sua pequena espessura.

#### 1.4. Processos de Permeação

Há inúmeras interpretações teóricas para o transporte de massa através de membranas. Porém, podem ser resumidas, basicamente, em 2 classes de mecanismos. Membranas capazes de reter solutos de diâmetro molecular inferior a  $10^{\circ}\text{Å}$  agem como barreira de transporte difusivo. Membranas que retêm partículas maiores que  $10^{\circ}\text{Å}$  agem como peneiras moleculares (16).

Nas membranas difusivas, a permeação pode ser vista como resultado de dois processos distintos (30): solubilidade do permeante no polímero, que é uma grandeza termodinâmica e difusão, uma grandeza cinética relacionada à mobilidade do permeante, direcionada por gradientes de potencial químico na membrana. A eficiência na retenção de solutos não pode ser prevista com base, somente, no tamanho molecular, pois a afinidade do soluto pelo material constituinte da membrana é um fator igualmente importante. Nestas membranas, o fluxo de solvente é diretamente proporcional à diferença de pressão efetiva através da membrana, enquanto que o fluxo de soluto não é diretamente dependente da pressão. Assim, a eficiência na retenção de solutos aumenta com o aumento da pressão.

Em membranas do tipo "peneira", o solvente se move através dos microporos em um fluxo essencialmente viscoso, enquanto as moléculas do soluto são carregadas de maneira convectiva com o solvente, mas somente através de poros cujas dimensões são suficientemente grandes para acomodá-las. A química destas membranas não mais desempenha papel importante no processo de separação e sua seletividade depende apenas do tamanho e distribuição de poros na camada filtrante. Assim, a eficiência na retenção de solutos é independente da pressão aplicada.

Na realidade, grande parte das membranas apresenta comportamento intermediário entre os dois tipos.

### 1.5. Ultrafiltração

Experimentos de ultrafiltração de proteínas foram relatados desde 1856 (31), por Schmidt, que utilizou uma membrana animal. O termo "ultrafiltração" foi introduzido, em 1906, por

Bechhold (32), quem fez o primeiro estudo sistemático sobre o assunto. Porém, o processo só apresentou progresso acelerado com o desenvolvimento das membranas assimétricas. Hoje inúmeros materiais são usados na preparação de membranas, além do acetato de celulose: policarbonato, poli(cloreto de vinila), poliamidas, polissulfona, poliacrilatos, poli(álcool vinílico) reticulado, etc.

O processo de ultrafiltração apresenta vantagens sobre outros processos de separação. É atérmico e pode ser executado a temperaturas relativamente baixas, limitando qualquer desnaturação térmica de proteínas. Não envolve transição de fases, resultando em baixo consumo de energia. Requer baixa pressão hidrostática (33).

Estas características permitem a substituição, em escala industrial, de processos convencionais, tais como evaporação a vácuo e secagem por calor. Na secagem convencional de alimentos, por exemplo, grande parte do sabor original, textura, cor e mesmo valor nutritivo é perdida por degradação térmica. Em processos farmacêuticos, o calor geralmente desnatura proteínas e inativa produtos químicos mais sensíveis. Mesmo em secagem por liofilização, alguns dos componentes sublimam com o gelo e outros são inativados no congelamento (34).

As aplicações industriais da ultrafiltração, hoje, são principalmente nas áreas de controle de poluição e recuperação de subprodutos. O mercado mundial atinge 50 milhões de dólares anuais, dos quais 75% correspondem a separações industriais e o restante a aplicações em laboratório (2). Na indústria de laticínios, a UF participa do tratamento do soro do leite para evi-

tar problemas de poluição e obter um produto rentável. Estima-se que 3% da produção mundial de soro são recuperados por ultrafiltração (35). A ultrafiltração do soro do leite produz um concentrado constituído de 10 a 20% de proteína e um filtrado contendo lactose, sais e ácido lático (11).

Na Califórnia foi construída em 1982 pela Fermentec Corp. uma planta comercial para conversão do soro do leite em etanol de grau combustível. A planta tem capacidade para processar aproximadamente 230 toneladas de soro por dia e produzir 1,6 milhões de metros cúbicos anuais de etanol anidro (36). O soro é concentrado por ultrafiltração e as proteínas são recuperadas por precipitação para serem utilizadas como ração animal. O soro livre de proteínas é fermentado para produzir o etanol anidro que é recuperado por destilação.

Outra aplicação recente é a purificação e concentração de produtos biológicos – vacinas, proteínas do plasma, hormônios e enzimas. Mas a principal aplicação em larga escala é a recuperação de tintas em processos eletroforéticos para pintura de automóveis, etc. (2,5,14,35).

Entretanto, no processamento de soluções contendo proteínas ou outras espécies macromoleculares, ocorrem 2 problemas que afetam a eficiência da ultrafiltração. Primeiro, as macromoléculas aderem às paredes dos poros da membrana, reduzindo o seu tamanho. Mais importante, porém, é o acúmulo de macromoléculas na superfície da membrana, formando uma camada de alta viscosidade, que age como barreira adicional ao fluxo de solvente. O fenômeno é conhecido como polarização por concentração e é de corrente do critério para transporte de massa em estado estacionário. A velocidade de transporte do soluto em direção à super

fície da membrana deve ser igual à velocidade de afastamento do soluto da superfície. Esta condição só pode ser satisfeita se a concentração do soluto na camada adjacente à membrana for maior que no restante da solução (16). A influência da polarização sobre o desempenho da membrana pode ser severa, provocando um sensível decréscimo na velocidade de ultrafiltração. Se a solução acumulada na superfície da membrana é suficientemente concentrada e o soluto é de peso molecular relativamente baixo, a alta pressão osmótica na camada de polarização reduz a pressão efetiva para a ultrafiltração, reduzindo o fluxo. Se a solução contém soluto de alto peso molecular, é produzida uma camada de resistência ao fluxo hidráulico, podendo também ser induzida a formação de gel, que atua como uma segunda membrana de permeabilidade, geralmente mais baixa. Esforços vêm sendo explorados no desenvolvimento de módulos de membranas que permitam minimizar a polarização. Sob este ponto de vista, nos processos envolvendo ultrafiltração, os gastos com recirculação e bombeamento da solução representam uma boa fração dos custos operacionais.

Apesar das inúmeras aplicações, a ultrafiltração não é eficiente, por exemplo, no fracionamento de espécies diferindo em peso molecular por um fator inferior a 10. Isto se deve principalmente à distribuição de tamanho de poros usualmente muito larga. Um segundo fator importante é a interação de certos solutos com a membrana, que altera as suas características de retenção quanto a outros solutos. Um exemplo deste fenômeno é o fracionamento de sangue (2). Em princípio, seria possível separar albumina ( $M = 65000$ ) de gamaglobulina ( $M = 160000$ ), que seria retida por uma membrana adequada. Entretanto, a presença de gamaglobulina, mesmo em concentrações relativamente baixas, au-

menta substancialmente a retenção de albumina, tornando a separação inefetiva.

### 1.6. Osmossedimentação

Um sistema constituído por uma solução de composição uniforme, em uma coluna vertical, sujeito à gravidade ou a um campo centrífugo, não está no equilíbrio termodinâmico (37). O sistema caminha para um estado de equilíbrio, através da sedimentação do componente mais denso, até que o potencial químico de cada componente seja uniforme, independentemente da profundidade.

Em um líquido puro, à medida que a profundidade aumenta, o potencial químico diminui devido à influência da gravidade, mas aumenta de um valor equivalente pelo efeito da pressão hidrostática (38). Em uma solução, o potencial químico de um dado componente é, também, função da sua fração molar. Assim, em uma solução a pressão e temperatura constantes, em equilíbrio, sob gravidade, verifica-se um gradiente de atividade do componente  $i$  com a altura, que segue a equação barométrica (39):

$$\frac{\partial (\ln a_i)}{\partial h} = \frac{- M_i (1 - \bar{v}_i \rho_{sol}) g}{RT}$$

onde  $\bar{v}_i$  = volume parcial específico do componente  $i$

$\rho_{sol}$  = densidade da solução

$M_i$  = peso molecular de  $i$

$g$  = aceleração da gravidade.

Além do aspecto termodinâmico, porém, deve ser levado em consideração o aspecto cinético do atingimento do equilíbrio. O processo é extremamente lento e sua cinética foi estudada, já em 1924, por Mason e Weaver (40). Por exemplo, para um soluto de

peso molecular  $3 \times 10^6$  e densidade  $1,62 \text{ g/cm}^3$ , em uma coluna de 22 cm de comprimento, o equilíbrio só seria alcançado após 35 a nos (38), o que tornaria impossível a observação de gradientes de concentração. O tempo de atingimento do estado de equilíbrio pode ser diminuído utilizando-se colunas pequenas, mas a observação de gradientes de concentração, nestas condições só foi, realmente, favorecida com o advento da ultracentrífuga.

Em 1952, Lang (41) observou que, em 2 osmômetros colocados verticalmente em alturas diferentes com seus compartimentos de solução e solvente interconectados, havia concentração do soluto no osmômetro inferior. O interesse principal destes experimentos, porém, era outro e esta observação foi apenas registrada.

Em estudo mais recente, Galembeck e colaboradores (37, 42-44) observaram que gradientes de concentração verticais se desenvolvem rapidamente, sob gravidade normal, se a solução em estudo for colocada em contato com o solvente puro, através de uma membrana semipermeável.

A razão para o rápido atingimento do equilíbrio com a introdução do acoplamento osmótico pode ser compreendida, considerando-se uma solução ideal de uma substância A num solvente B, em um compartimento separado do solvente puro por uma membrana permeável somente a B, conforme a Figura 3

Inicialmente, há um gradiente de potencial químico  $\mu_B$  de B através da membrana. O potencial químico de B no compartimento destinado ao solvente puro não varia com a profundidade:

$$\mu_B^{\text{solv}}(z) = \mu_B^0 + \int_P^{P+z\rho g} \bar{V}_B dP - \int_0^z M_B g dz = \mu_B^0$$

onde  $P$  é a pressão,  $\bar{V}_B$  é o volume molar parcial de B e  $M_B$  é o peso molecular de B.

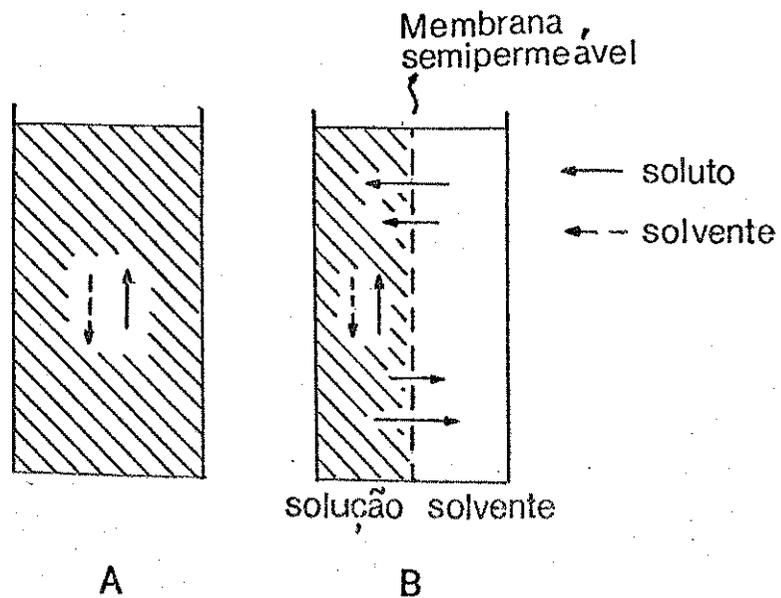


FIGURA 3. Transporte de massa em:  
(a) sedimentação normal  
(b) osmossedimentação (38).

O potencial químico de B no compartimento destinado à solução segue a equação:

$$\mu_B^{\text{sol}}(z) = \mu_B^{\text{o}} + RT \ln X_B + \int_0^z \bar{V}_B g \rho_{\text{sol}} dz - \int_0^z M_B g dz$$

onde  $X_B$  é a fração molar de B na solução, admitida como sendo ideal. Haverá, portanto, através da membrana, uma diferença de potencial químico

$$\Delta \mu_B = \mu_B^{\text{sol}} - \mu_B^{\text{solv}} = RT \ln X_B + z \bar{V}_B^{\text{o}} g \Delta \rho$$

onde  $\Delta \rho = \rho^{\text{sol}} - \rho^{\text{solv}}$ , supondo-se que não há desnível entre os compartimentos, que  $\bar{V}_B^{\text{o}} \approx \bar{V}_B$  e que  $X_B$  é inicialmente constante com  $z$ .

O termo  $RT \ln X_B$  é sempre negativo e força o fluxo de B para o compartimento da solução, até que o segundo termo (que po-

de ser positivo ou negativo) se torne positivo e ultrapasse o valor de  $RT \ln X_B$  em módulo. Assim, o solvente flui para o compartimento da solução na parte superior da coluna, enquanto que, na parte inferior, o fluxo é invertido, com o solvente saindo do mesmo compartimento. O fluxo de solvente ocorre até que o potencial químico não mais varie através da membrana, isto é, quando o equilíbrio de sedimentação for alcançado.

Como o acoplamento osmótico não altera a posição do equilíbrio de sedimentação, torna-se possível a aplicação do tratamento teórico adicional, permitindo o cálculo de parâmetros moleculares, tais como peso molecular, coeficiente virial, etc.

Desde que a sedimentação com acoplamento osmótico, ou osmossedimentação, permite o uso de colunas de comprimento razoá-vel a tempos relativamente curtos, torna-se possível a concentração de proteínas e outros macrossolutos, requerendo-se para isto, essencialmente, uma membrana adequada. Tal membrana deve ser seletiva quanto ao soluto em questão, além de oferecer um fluxo suficientemente alto para tornar o processo cineticamente satisfatório. A concentração de proteínas por osmossedimentação evitaria os sérios problemas de polarização observados na ultrafiltração e não exigiria as pressões por ela requeridas.

### 1.7. Objetivo

O objetivo principal deste trabalho foi o aperfeiçoamento de membranas sintéticas que permitissem estender o uso da osmossedimentação a proteínas e solutos de pesos moleculares inferiores aos que eram viáveis até a época de seu início, em março de 1981. Tais membranas deveriam obedecer a requisitos de baixa resistência ao fluxo de solvente e retenção satisfatória dos

solutos em questão. Membranas com estas características seriam interessantes, também, para ultrafiltração de solutos de mesma faixa de peso molecular.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

### 2.1. Materiais e Equipamento

#### Materiais:

Acetato de celulose

- secundário, em folhas, da Rhodia
- Carlo Erba (53% de ácido acético combinado)

Ácido acético glacial Labormax

Acetona PA-ACS Carlo Erba

Ferrocianeto de potássio  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$  Merck

Nitrato de níquel  $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  Ecibra

Nitrato de cobalto  $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  Carlo Erba

Sulfato de alumínio  $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$  Carlo Erba

Sulfato de ferro e amônio  $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$  Carlo Erba

Nitrato de ferro III  $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$  Merck

Hidróxido de amônio 28% ACS Carlo Erba

Gamaglobulina bovina - 82-042-3 - Pentex - Miler Laboratories

lot 1012

$\beta$ -Lactoglobulina bovina - L-0130 Sigma - lot 119C - 8020

Albumina bovina - A-7638 Sigma - lot 121F - 9325

Ovoalbumina - A-5503 Sigma - lot 108C-8135

Inibidor de Tripsina de soja - T9128 Sigma

Dextrana 40000 - 101505 ICN - lot 2151

Dextrana azul ( $M = 2 \times 10^6$ ) - D-5751 Sigma - lot 50F-01B

#### Equipamento:

Espectrofotômetro UV-visível Zeiss PMQ-II

Espectrofotômetro Infravermelho Perkin Elmer - 399B

Densímetro PAAR-DMA 60

Microscópio óptico Nikon Apophot (Nippon Kogaku K.K. - Japan)

Microscópio eletrônico JEOL JSM-P15

## 2.2. Membranas Assimétricas de Acetato de Celulose

### 2.2.1. Preparação das Membranas

As membranas foram, inicialmente, preparadas no laboratório, seguindo-se o procedimento aperfeiçoado por Robi-lotta (44), com base no método de Loeb e Sourirajan (10).

Dissolveram-se 75 g de acetato de celulose em uma mistura solvente, contendo 500 ml de ácido acético e 175 ml de água destilada.

A solução, completamente homogeneizada e sem bolhas de ar foi espalhada sobre uma placa de vidro. Esta placa continha dois fios de níquel-cromo de 0,2 mm de espessura (fio número 32), esticados para possibilitar o controle de uniformidade da espessura da membrana. Espalhou-se a solução com o auxílio de um bastão de vidro, que corria sobre os fios.

Deixou-se o solvente evaporar por 2 minutos e inroduziu-se a placa em uma vasilha com água filtrada, para que o polímero coagulasse.

Seguindo o procedimento acima, formou-se um filme, cuja face que secou em contato com o ar era mais brilhante e aparentemente mais hidrofóbica que a face em contato com a placa.

### 2.2.2. Avaliação do Acetato de Celulose Usado

#### na Preparação das Membranas

A princípio, as membranas eram preparadas com a-

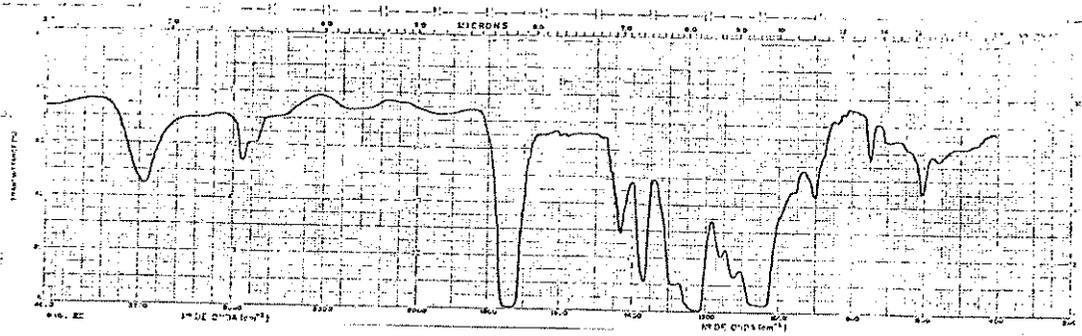
acetato de celulose secundário comercial, vendido em folhas, cuja composição exata era por nós desconhecida. Observou-se, porém, que membranas preparadas com acetato de lotes diferentes a apresentavam variações em suas características, principalmente de fluxo. Passou-se, então, a usar somente acetato de celulose da Carlo Erba (53% de ácido acético combinado).

Para investigar a possível causa destas variações, foram obtidos espectros de absorção no infravermelho e foram realizadas medidas de viscosidade dos acetatos de origens distintas.

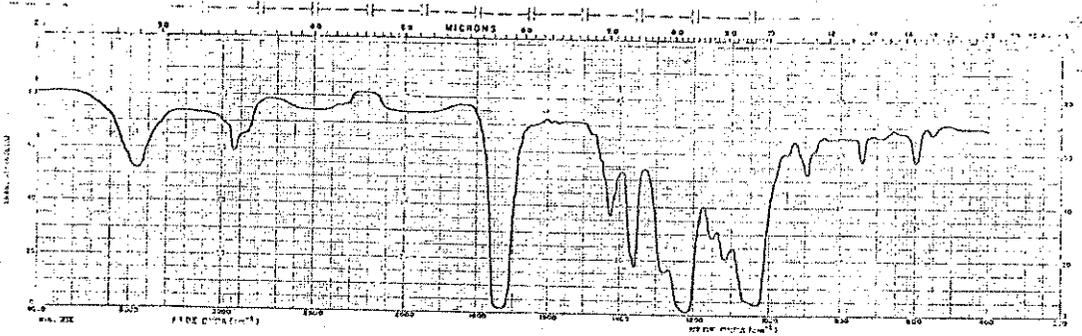
#### ESPECTROS VIBRACIONAIS NO INFRAVERMELHO

Para a obtenção dos espectros, prepararam-se, por evaporação de solvente, filmes transparentes de acetato de celulose, com espessura aproximada de 0,012 mm. Os espectros obtidos a partir destes filmes estão apresentados nas Figuras 4a, 4b e 4c. As Figuras 4a e 4b correspondem ao acetato de celulose comercial, vendido em folhas, de diferentes lotes; a figura 4c corresponde ao acetato da Carlo Erba. Para comparação são apresentados os espectros da celulose natural (Figura 5a), monoacetato de celulose (Figura 5b) e triacetato de celulose (Figura 5c) encontrados na literatura (45).

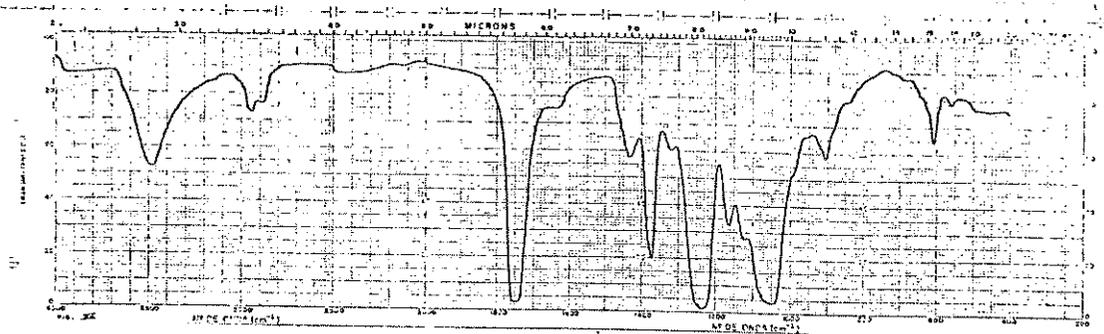
Os acetatos de celulose formam um grupo de produtos nos quais o grau de acetilação é variável até a esterificação total, correspondente ao triacetato (62,5% de ácido acético combinado), chamado também acetato primário. Os acetatos secundários (51-57% de ácido acético combinado) são obtidos por hidrólise parcial do triacetato, após a reação de acetilação (46).



A

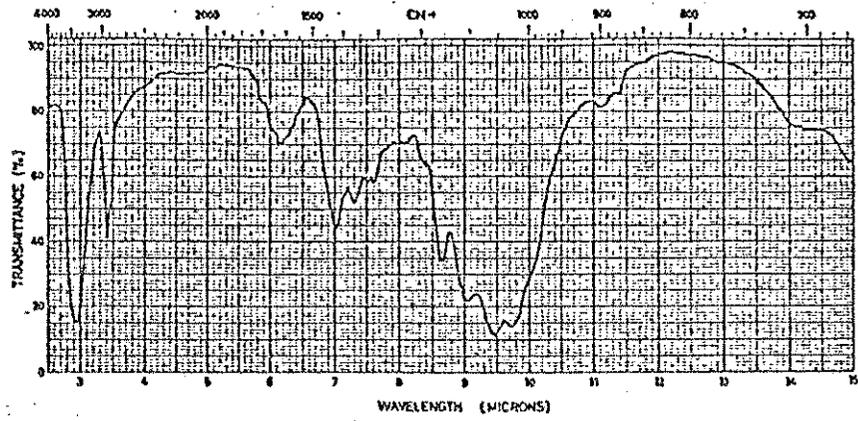


B

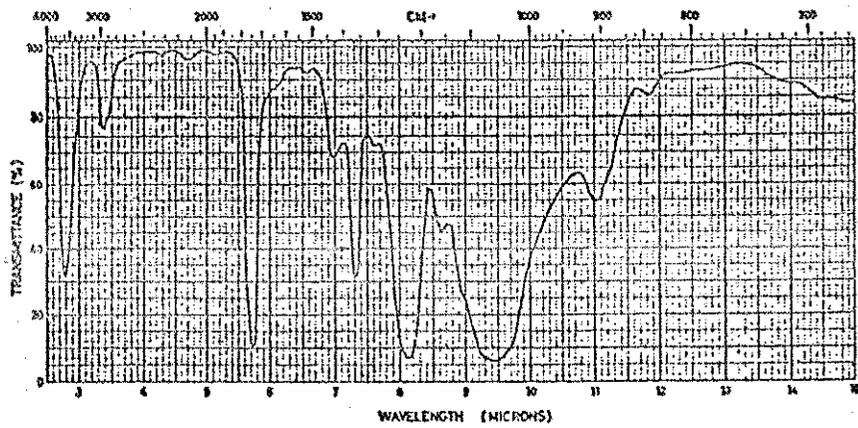


C

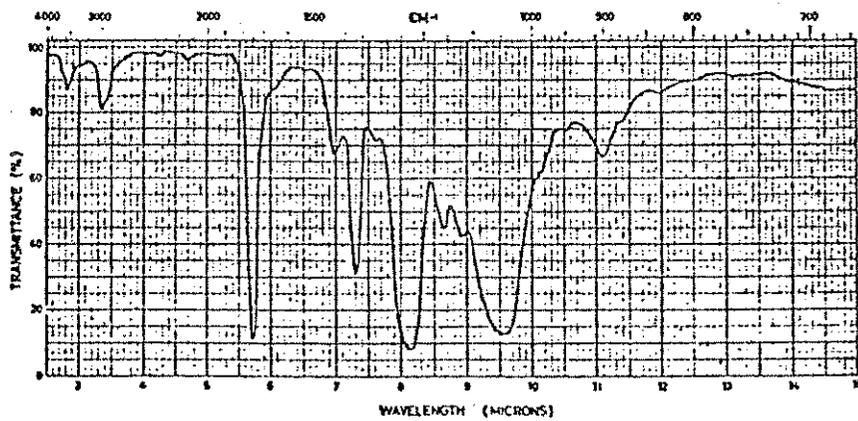
FIGURA 4. Espectros vibracionais no infravermelho do acetato de celulose (a,b) comercial da Rhodia e (c) da Carlo Erba.



A



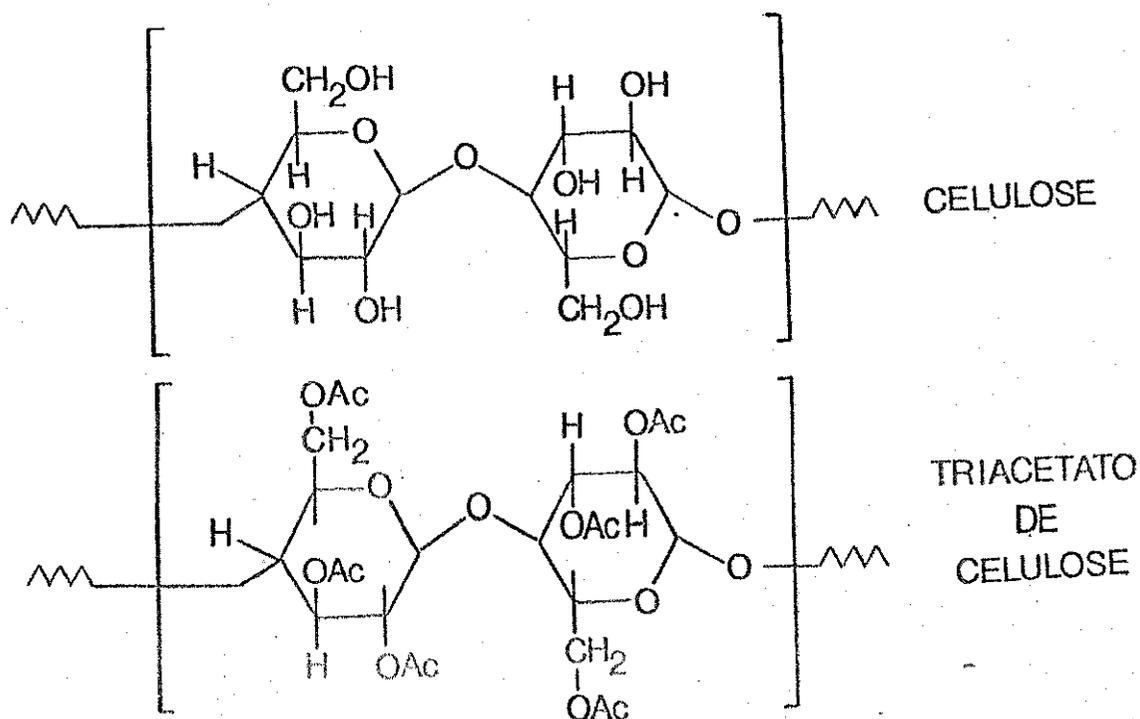
B



C

FIGURA 5. Espectros vibracionais no infravermelho da (a) celulose natural, (b) monoacetato de celulose e (c) triacetato de celulose (45).

A celulose e o triacetato de celulose apresentam as seguintes estruturas (1):



O acetato de celulose usado na preparação das membranas é secundário e apresenta um grau de substituição entre a celulose e seu triacetato.

A celulose contém grupos éter e álcool responsáveis por forte absorção a  $3460\text{ cm}^{-1}$  e entre  $1000$  e  $1110\text{ cm}^{-1}$ . Na celulose acetilada, as absorções devidas a hidroxilas têm sua intensidade diminuída, podendo ser até removidas, dependendo da extensão da modificação, mas os elos internos e externos são preservados (46). Estes grupos são responsáveis pela banda relativamente larga próxima a  $1050\text{ cm}^{-1}$ , com ombros irregulares. As principais bandas distinguíveis do espectro do acetato de celulose empregado podem ser atribuídas da maneira apresentada na Tabela 3 (45,47).

As bandas a  $1370$ ,  $1430$  e  $1740$  são características do éster, enquanto que a transição a  $3470\text{ cm}^{-1}$  é característica da ce

lulose não acetilada. Quanto maior a intensidade das 3 primeiras bandas, em relação à última, maior o grau de acetilação.

TABELA 3. Atribuições de bandas de absorção do acetato de celulose no infravermelho.

Nº de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição
3470	Vibração de estiramento O-H
1740	Vibração de estiramento C=O do éster
1430	Deformação $-\text{CH}_3$
1370	Deformação $-\text{CH}_3$

Para uma avaliação da acetilação relativa dos 3 acetatos usados, foram calculadas as intensidades das bandas, da seguinte maneira: Traçou-se uma linha base para cada banda, cor-

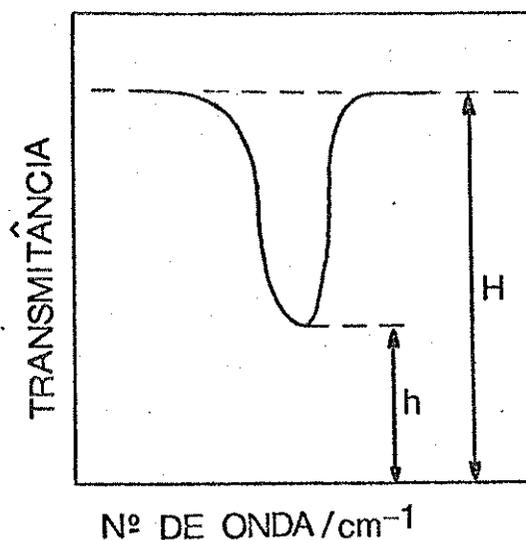


FIGURA 6. Avaliação do grau de acetilação do acetato de celulose: método da linha-base.

respondente a 100% de transmitância, conforme a Figura 6. Mediram-se as alturas  $h$  e  $H$  e a absorbância foi calculada como sendo:

$$A = - \log \frac{h}{H}$$

TABELA 4. Intensidade das bandas referentes aos espectros de acetato de celulose das Figuras 4a, 4b e 4c.

Nº de onda (cm <sup>-1</sup> )	Figura 4a	Absorbância Figura 4b	Figura 4c
3470	0,22	0,17	0,22
1740	2,2	1,6	1,5
1430	0,23	0,17	0,07
1370	0,65	0,49	0,54
Absorbâncias relativas A/A (3470 cm <sup>-1</sup> )			
1740	9,9	9,3	6,6
1430	1,0	1,0	0,31
1370	3,0	2,0	2,1

O valor  $A/A (3470 \text{ cm}^{-1})$  é diretamente proporcional ao grau de acetilação. Verifica-se, assim, que o acetato de celulose da Carlo Erba apresenta menor grau de acetilação que o acetato em folhas. Não há diferença significativa, com relação a grau de acetilação, entre os acetatos em folha de lotes diferentes. Nota-se, também, que nos espectros dos acetatos em folha aparece uma banda próxima a  $745 \text{ cm}^{-1}$ , que não aparece no espectro do acetato da Carlo Erba. Provavelmente trata-se de algum aditivo (corante, plastificante, etc) introduzido durante a confecção das folhas. As folhas apresentam uma coloração esverdeada, proveniente da adição de substâncias que não estão presentes no acetato fornecido pela Carlo Erba.

#### DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE INTRÍNSECA

Para investigação do peso molecular dos diferentes ace-

tatos, determinou-se a viscosidade de cada um deles. Usou-se um viscosímetro de Ostwald e observou-se o procedimento aconselhado na literatura (48,49,50).

O viscosímetro foi lavado, primeiramente, com solução 5% de hidróxido de sódio em etanol, depois com solução de ácido clorídrico e várias vezes com água bidestilada. Foram preparadas soluções 0,5% a 3,0% de todos os acetatos usados, em acetona. As soluções foram deixadas em banho termostaticado a 25°C por 10 minutos antes das medidas. O viscosímetro foi colocado em posição vertical dentro do banho, cada solução foi introduzida e mediu-se o tempo de escoamento entre as 2 divisões do capilar. Antes de cada medida, o viscosímetro foi lavado com a mesma solução cuja viscosidade seria verificada. A densidade de cada solução foi determinada, pesando-se em balança analítica 1 ml de solução medido com pipeta volumétrica. Os resultados encontram-se na Tabela 5.

A viscosidade intrínseca (48,50) é definida como

$$|\eta| = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{1}{c} \ln \frac{\eta_s}{\eta_0}$$

onde  $\eta$  = coeficiente de viscosidade da solução

$\eta_0$  = coeficiente de viscosidade do solvente

$c$  = concentração em g/ml.

Mas 
$$\frac{\eta_s}{\eta_0} = \frac{t_s}{t_0} \frac{\rho_s}{\rho_0}$$

onde  $t_s$  = tempo de escoamento da solução

$t_0$  = tempo de escoamento do solvente

$\rho_s$  = densidade da solução

$\rho_0$  = densidade do solvente

TABELA 5. Valores de tempo de escoamento das soluções de acetato de celulose em acetona, para determinação de viscosidade intrínseca a 25<sup>o</sup>C.

Acetato* de celulose	Concentração da solução x 10 <sup>2</sup> g.ml <sup>-1</sup>	Densidade g.ml <sup>-1</sup>	Tempo de** escoamento médio (s)	$\frac{1}{c} \ln \frac{t_s \rho_s}{t_0 \rho_0}$
4a	0,65 <sub>9</sub>	0,79	18,3	70,6
	1,23	0,79	28,0	72,5
	1,99	0,78	35,1	56,1
	2,49	0,78	47,1	56,7
4b	0,47 <sub>3</sub>	0,79	16,1	71,2
	1,27	0,79	27,2	67,6
	1,69	0,78	39,5	72,8
	2,99	0,78	90,4	69,0
4c	0,45 <sub>3</sub>	0,78	18,2	101
	0,83 <sub>4</sub>	0,78	25,5	94,9
	1,49	0,78	55,8	106
	2,17	0,78	115,0	106

\* As amostras estão identificadas da mesma forma que na Figura 4.

\*\* Média de 3 determinações.

Tem-se, então:

$$|\eta| = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{1}{c} \ln \frac{t_s \rho_s}{t_0 \rho_0}$$

Para avaliar o peso molecular, utiliza-se

$$|\eta| = KM^a \quad (48,50)$$

onde M = peso molecular do polímero

K e a são parâmetros empíricos característicos tanto do polímero como do solvente e da temperatura.

Para o acetato de celulose em acetona (50)

$$K = 8,97 \times 10^{-3} \text{ ml/g}$$

$$a = 0,90$$

para  $T = 25^{\circ}\text{C}$  e acetato de celulose com peso molecular dentro da faixa de 1 a  $18 \times 10^4$ .

Os valores da Tabela 5 foram colocados em um gráfico de  $\frac{1}{c} \ln \frac{t_s^{\rho_s}}{t_0^{\rho_0}}$  em função de concentração, que é apresentado na Figura 7.

Extrapolando-se as retas da Figura 7 até  $c \rightarrow 0$  e utilizando o método dos mínimos quadrados, obtiveram-se os valores:

$$|\eta|_{4a} = 79$$

$$|\eta|_{4b} = 71$$

$$|\eta|_{4c} = 96$$

$$\text{e como } M = \left( \frac{|\eta|}{K} \right)^{1/a}$$

$$M_{4a} = 2,4 \times 10^4$$

$$M_{4b} = 2,2 \times 10^4$$

$$M_{4c} = 3,0 \times 10^4$$

Portanto, não há diferenças acentuadas nos pesos moleculares dos 3 acetatos de celulose, mas o do acetato da Carlo Erba é ligeiramente maior.

### 2.2.3. Caracterização das Membranas de Acetato de Celulose: Quanto a Fluxo a 1 Metro de Água e Retenção em Célula de Diálise.

#### MEDIDA DE RESISTÊNCIA AO FLUXO DE ÁGUA (A 1 METRO DE ÁGUA)

Inicialmente, a avaliação da permeabilidade das membranas foi efetuada, registrando-se o fluxo de água através delas, sob uma pressão de 1 metro de água. As medidas foram efetuadas, usando-se o sistema desenhado na Figura 8. A água foi colocada em um reservatório, ligado a uma célula de diálise, com

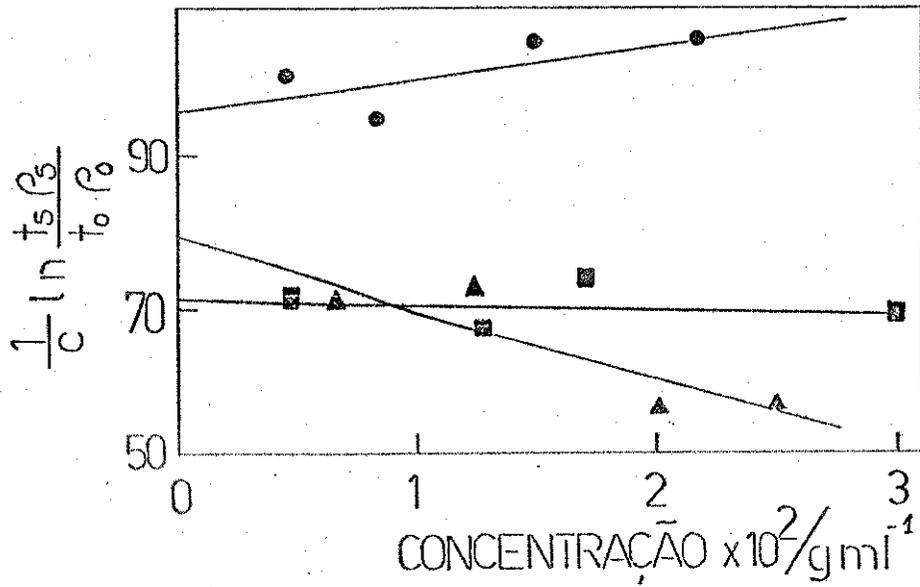


FIGURA 7. Determinação da viscosidade intrínseca do acetato de celulose 4a ( $\Delta$ ), 4b ( $\square$ ) e 4c ( $\circ$ ).

posta por 4 placas de acrílico. Cada placa de acrílico possuía uma espessura de 6 mm e 6 cm de lado. Duas placas eram perfuradas com  $12,6 \text{ cm}^2$  de área vazada. A célula montada segundo a Figura 9 continha 2 compartimentos separados entre si por 2 folhas perfuradas de polietileno e entre elas a membrana em estudo.

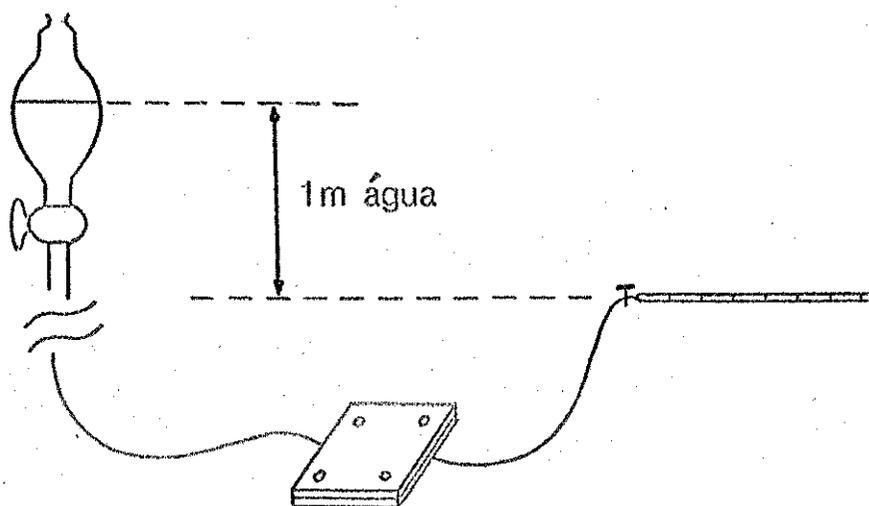


FIGURA 8. Sistema para medição de fluxo a 1 metro de água.

Um dos compartimentos foi ligado ao reservatório de água e o outro a uma pipeta, colocada na posição horizontal.

As medições de fluxo foram efetuadas, registrando-se o tempo necessário para que a água preenchesse cada divisão da pipeta, mantendo-se o nível do reservatório de água a 1 metro da pipeta.

#### MEDIDAS DE RETENÇÃO EM CÉLULAS DE DIÁLISE

As medições de retenção foram feitas, inicialmente, usando-se as células de diálise descritas na Figura 9. Preen

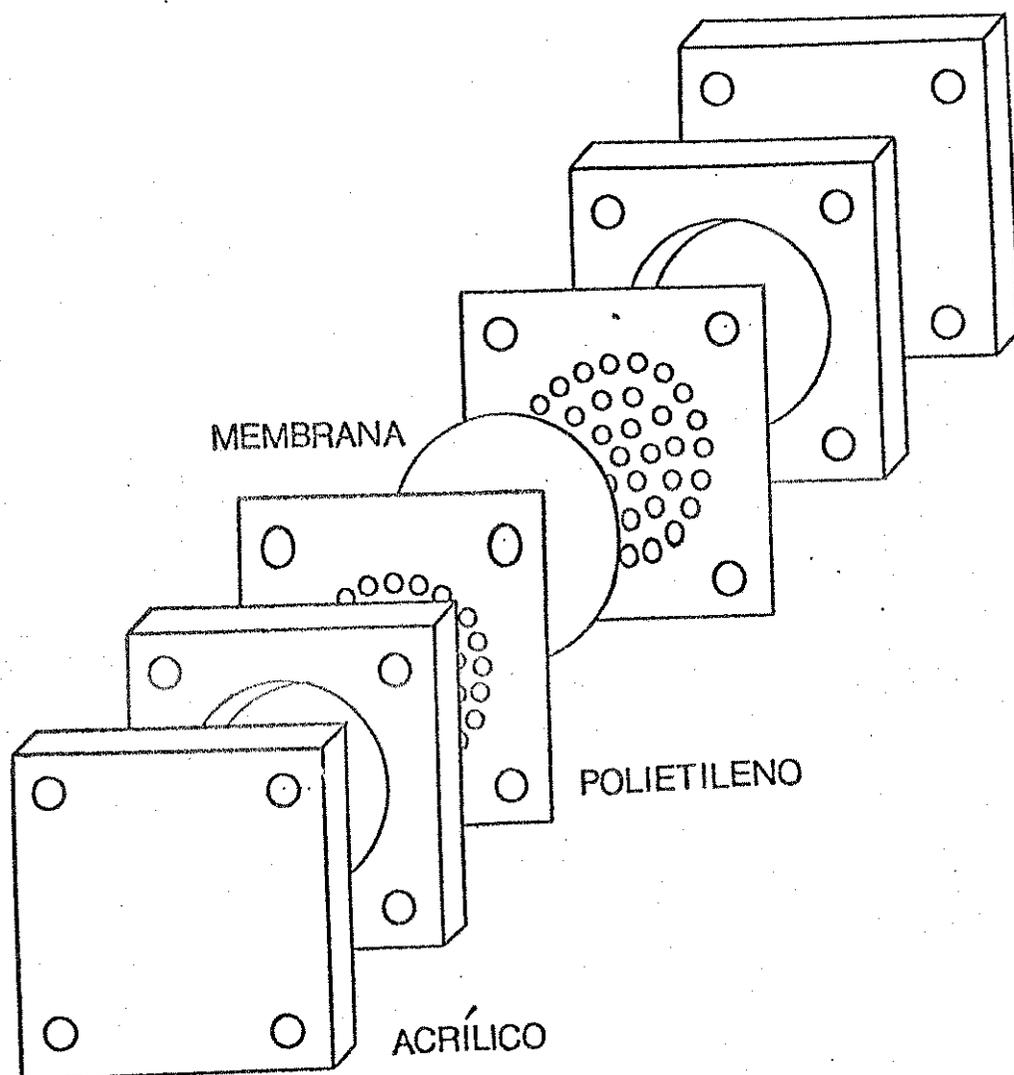


FIGURA 9. Célula de diálise para medidas de fluxo e retenção.

cheu-se um dos compartimentos da célula (A) com solução 0,1% de gamaglobulina (M = 165000) em cloreto de sódio 0,1 M aquoso e o outro compartimento (B), com solução de cloreto de sódio de mesma concentração. As células de diálise foram, então, colocadas em geladeira, sem agitação, durante 24 horas. Após este tempo, retiraram-se alíquotas de cada compartimento e leu-se a absorvância das soluções, usando-se o espectrofotômetro Zeiss PMQ-II, a 280 nm.

A percentagem de retenção, neste caso, foi definida como a relação

$$R = \frac{A (t = 24 \text{ h})}{A (t = 0)} \times 100$$

onde A (t = 0) = absorvância inicial da solução introduzida no compartimento A.

A (t = 24 h) = absorvância da solução contida no mesmo compartimento após 24 h.

#### PRIMEIRAS MODIFICAÇÕES NA PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS

Antes de introduzir qualquer modificação mais extensa no método de preparação das membranas, foi observado o efeito de compactação que elas sofriam depois de serem submetidas por um longo tempo a uma certa pressão. Foi também verificado que a introdução de mais uma etapa no procedimento — o aquecimento das membranas coaguladas, durante 1,5 hora em água a 60°C — alterava este comportamento.

A Tabela 6 apresenta valores de fluxo de água, através de membranas de acetato de celulose da Carlo Erba, submetidas a 1 metro de água por aproximadamente 5 horas. Somente a

membrana A sofreu tratamento térmico.

TABELA 6. Compactação de membranas com o tempo, a 1 metro de água.

Membrana A		Membrana B	
Tempo (min)	Fluxo (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Tempo (min)	Fluxo (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )
5	0,023	6	0,079
17	0,022	17	0,071
40	0,021	26	0,070
64	0,019	39	0,062
83	0,018	58	0,056
158	0,018	75	0,054
229	0,017	95	0,049
294	0,015	118	0,046
		135	0,045
		151	0,045
		180	0,042
		228	0,040
		265	0,037

#### EFEITO DA VARIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA MISTURA SOLVENTE

Foi estudado o efeito da variação da composição da mistura solvente, que até então continha apenas ácido acético e água, adicionando-se mais um solvente — a acetona. Manteve-se a proporção de acetato de celulose na solução, mas o volume de ácido acético foi substituído pelo mesmo volume de uma mistura de ácido acético e acetona, em proporções variadas. A quantidade de água adicionada à solução foi mantida aproximadamente constante.

As membranas assim obtidas foram caracterizadas da maneira já descrita, medindo-se o fluxo de água a 1 metro de

água e a retenção em célula de diálise por 24 h. A Tabela 7 apresenta os resultados de caracterização das membranas preparadas com acetato de celulose da Carlo Erba. As membranas foram preparadas à temperatura ambiente de 26°C e após a coagulação, sofreram um tratamento térmico em água a 60°C, por 1,5 hora.

Além da percentagem de acetona especificada, cada mistura solvente continha, aproximadamente, 26% (m/m) de água e o restante de ácido acético. Cada solução continha, aproximadamente, 12% de acetato de celulose da Carlo Erba. Os resultados foram publicados recentemente (51).

TABELA 7. Caracterização das membranas de acetato de celulose da Carlo Erba, obtidas a partir de soluções, cuja mistura solvente apresentava diferentes proporções de acetona.

Membrana	% Acetona (m/m) na mistura solvente	Fluxo a 1 metro de água (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Retenção média de gamaglobulina (%)
1	0	0,023	94,9
2	12,5	0,021	97,2
3	32,8	0,018	98,0
4	52,1	0,0087	98,5
5	74,0		99,3

O fluxo da membrana 5, obtida a partir de uma solução que não continha ácido acético, não pode ser avaliado, por ser muito baixo para ser determinado, com boa precisão, com o sistema da Figura 8.

A Figura 10 apresenta a queda do fluxo de água com o aumento da percentagem de acetona na mistura solvente, acompanhada pelo aumento de retenção de gamaglobulina em célula

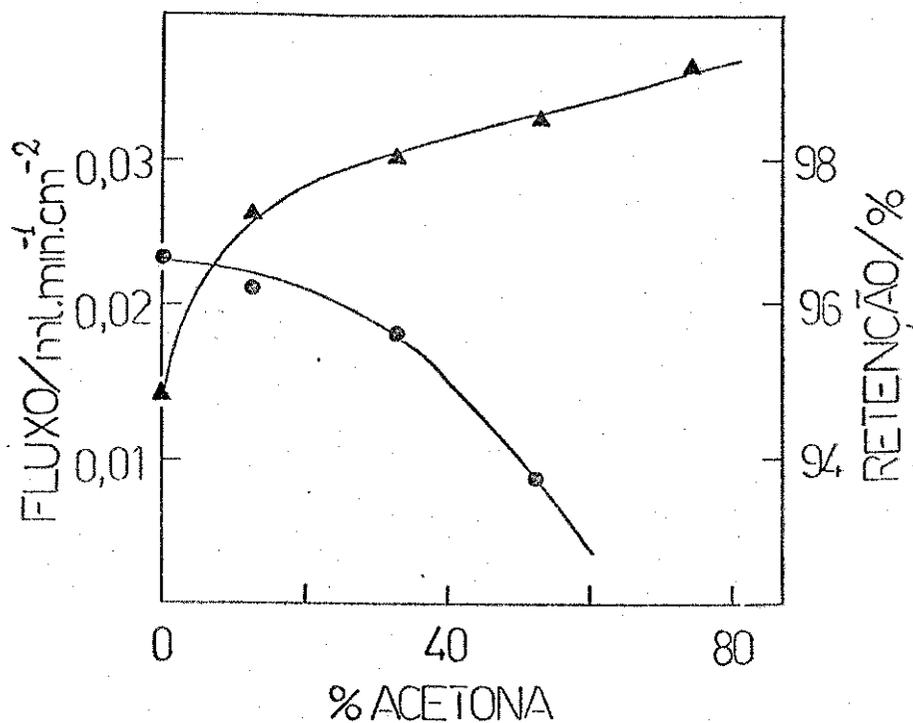


FIGURA 10. Retenção de gamaglobulina em célula de diálise (▲) e fluxo de água (sob pressão de 1 metro de água) (●), em função da porcentagem de acetona na mistura solvente.

de diálise.

A título de ilustração, a Tabela 8 apresenta alguns valores para a caracterização de membranas preparadas de maneira análoga às daquelas da Tabela 7, porém a partir de acetato de celulose comercial.

TABELA 8. Caracterização de membranas obtidas a partir de acetato de celulose comercial.

% Acetona (V/V) na mistura solvente	Fluxo a 1 metro de água (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Retenção de gamaglobulina (%)
0	0,063	96,1
20	0,042	-
37	0,012	-
41	0,014	96,5
44	0,007	96,3
56	-	95,9
74	-	96,8

Estes resultados correspondem às primeiras medidas efetuadas. Não houve controle de temperatura durante a preparação das membranas nem tratamento térmico final. Fluxos de água através de membranas, cuja mistura solvente continha 56 %, ou mais, de acetona não puderam ser determinados, com boa precisão, pelo sistema da Figura 8. Não foram determinadas as retenções de gamaglobulina para todas as membranas da tabela, mas observou-se que não houve muita evolução com a mudança da mistura solvente, para este tipo de acetato. Além disso, utilizando-se acetatos de celulose de lotes diferentes não havia reprodutibilidade nas medidas de fluxo. Membranas com acetato da Carlo Erba apresentavam, também, maior resistência mecânica. Por estas

razões, o trabalho passou a ser desenvolvido somente com acetato de celulose da Carlo Erba (53% de ácido acético combinado).

#### EFEITO DA VARIAÇÃO DA PROPORÇÃO DE ACETATO DE CELULOSE

Prepararam-se soluções de 5 a 12% de acetato de celulose (Carlo Erba) em uma mistura solvente de composição constante, contendo 31% de acetona, 41% de ácido acético e 28% de água. As membranas foram preparadas a 26°C e após a coagulação, foram mantidas em água a 60°C, por uma hora e meia.

O preparo de membranas com proporções de acetato de celulose fora da faixa considerada apresentou dificuldades. Soluções muito diluídas deram origem a membranas muito frágeis, enquanto que soluções muito concentradas apresentaram-se excessivamente viscosas para serem espalhadas de maneira uniforme sobre a placa de vidro.

A Tabela 9 apresenta valores de fluxo de água (a 1 metro de água) e retenção de gamaglobulina em células de diálise para estas membranas. Os resultados foram publicados (51).

TABELA 9. Caracterização de membranas obtidas a partir de soluções contendo diferentes proporções de acetato de celulose.

% Acetato (m/m)	Fluxo a 1 metro de água (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Retenção de gamaglobulina (%)
7,1	0,14 <sub>7</sub>	93,9
8,7	0,045	96,6
10,5	0,019	98,0
12,0	0,009	98,7

Os valores da Tabela 9 são apresentados em gráfico na Figura 11, onde se observa o aumento de retenção e diminuição de fluxo com o aumento da percentagem de acetato de celulose em solução

#### 2.2.4. Ensaaios de Ultrafiltração

##### 2.2.4.1. Caracterização a pressões de 0,5 a 2 atm.

Para caracterização das membranas a pressões acima de 1 metro de água (0,1 atm), usou-se o sistema da Figura 12.

Um kitasato foi utilizado como reservatório de solução. A solução era levada até o porta-filtro Millipore Swinnex 47, que continha a membrana, por um tubo de nylon. Foi necessário que toda a tubulação fosse de plástico, pois se verificou que a gamaglobulina desnatura em contato com peças metálicas. Um cilindro de nitrogênio, equipado com válvula e manômetro, foi utilizado para fornecer a pressão desejada.

A permeabilidade das membranas foi avaliada, pesando-se, em balança analítica, a quantidade de permeante que as atravessava em um determinado tempo (cronometrado). A seletividade foi avaliada, utilizando-se o mesmo sistema da Figura 12, onde o kitasato foi utilizado como reservatório de solução. Quando na avaliação foram usadas proteínas, determinou-se a absorbância (a 280 nm, em espectrofotômetro Zeiss PMQ -II) das soluções que atravessaram as membranas, considerando-se a percentagem de retenção como:

$$R = \left| 1 - \frac{A \text{ (filtrado)}}{A \text{ (reservatório)}} \right| \times 100$$

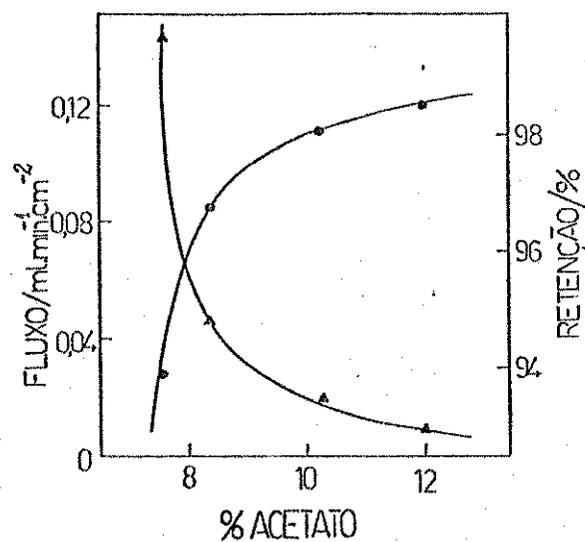


FIGURA 11. Efeito da concentração de acetato de celulose sobre o fluxo de água (Δ) e retenção (●) de gamaglobulina.

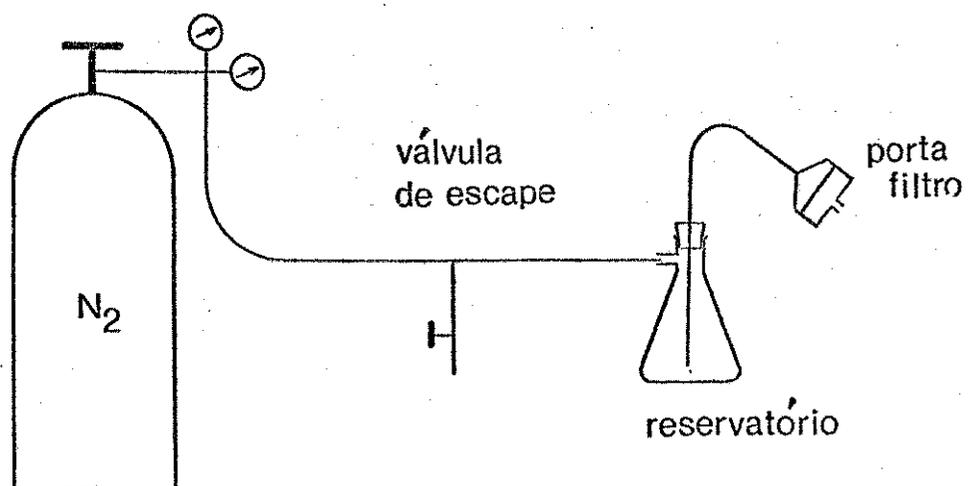


FIGURA 12. Caracterização de membranas por ensaios de ultrafiltração.

onde A (filtrado) = absorvância da solução que atravessou a membrana.

A (reservatório) = absorvância da solução de alimentação.

Este procedimento foi seguido para soluções-testes dos seguintes macrossolutos:

gamaglobulina (M = 165000) (52)

$\beta$ -lactoglobulina (M = 35500) (53)

albumina bovina (M = 66000) (54)

ovoalbumina (M = 42700) (55)

inibidor de tripsina (M = 24000) (56)

Foi utilizada, também, uma solução aquosa de dextrana (M = 40000). Neste caso, a retenção foi avaliada por medidas de densidade em densímetro PAAR-DMA 60. Construiu-se uma curva de calibração de concentração da dextrana em função de densidade, apresentada na Figura 13. Os valores que permitiram a construção da curva de calibração encontram-se na Tabela 10.

TABELA 10. Curva de calibração de concentração de dextrana em função da densidade, a 25°C.

Densidade (g.ml <sup>-1</sup> )	Concentração (g.ml <sup>-1</sup> )
1,00286 <sub>5</sub>	0,01659
1,00282 <sub>2</sub>	0,01633
1,00185 <sub>8</sub>	0,01347
1,00068 <sub>6</sub>	0,00993 <sub>8</sub>
0,99925 <sub>5</sub>	0,00613 <sub>3</sub>
0,99790 <sub>8</sub>	0,00245 <sub>2</sub>
0,99704 <sub>3</sub>	água

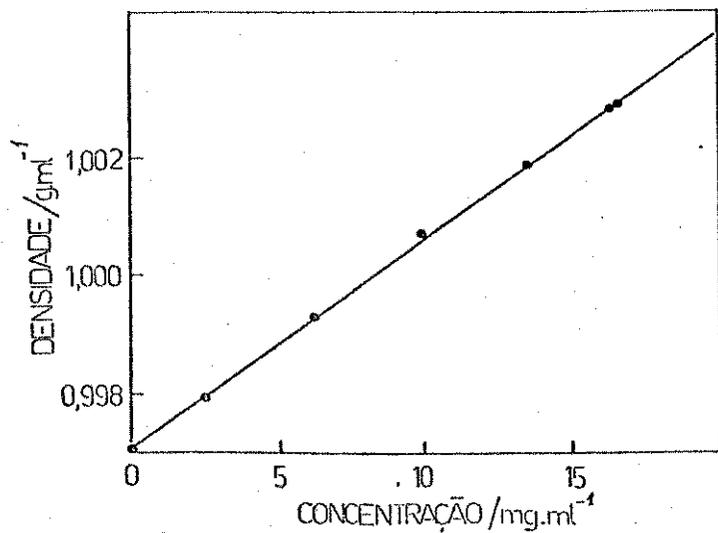


FIGURA 13. Curva de calibração de concentração de dextrana (M = 40000) em função de densidade.

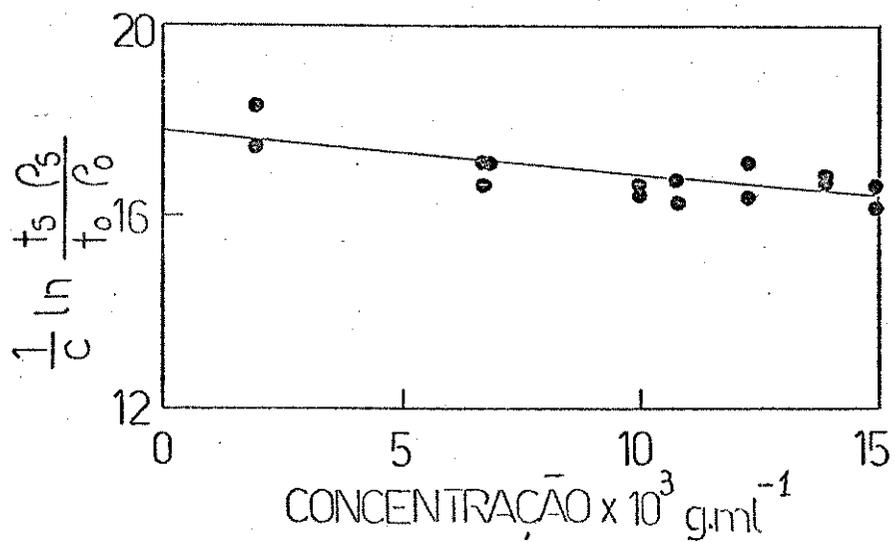


FIGURA 14. Determinação da viscosidade intrínseca da dextrana, a 25°C.

Como a concentração varia de maneira praticamente linear com a densidade, segundo a curva de calibração, foram determinadas as densidades da solução do reservatório ( $\rho$  (reservatório)) e da solução que atravessou a membrana ( $\rho$  (filtrado)) e se obteve a percentagem de retenção como:

$$R = \left| 1 - \frac{\rho \text{ (filtrado)}}{\rho \text{ (reservatório)}} \right| \times 100$$

Foi, também, determinado o peso molecular da dextrana usada, por viscosidade. A determinação foi realizada de maneira análoga à descrita para o acetato de celulose. Usou-se, porém, um viscosímetro de Ubbelohde, de princípio semelhante ao de Ostwald. Os resultados encontram-se na Tabela 11.

TABELA 11. Determinação da viscosidade intrínseca da dextrana, a 25°C.

Concentração $\times 10^3 \text{ g.ml}^{-1}$	Densidade ( $\text{g.ml}^{-1}$ )	Tempo de escoamento médio (s)*		$\frac{1}{c} \ln \frac{t_s \rho_s}{t_0 \rho_0}$	
		1a. Marca	2a. Marca	1a. Marca	2a. Marca
água	0,99704	37,5	71,5	-	-
14,89	1,00233	47,5	91,0	16,2	16,6
13,80	1,00195	47,0	90,0	16,7	16,9
12,23	1,00140	46,0	87,0	17,1	16,4
10,72	1,00087	44,5	85,3	16,3	16,7
9,90	1,00058	44,0	84,0	16,5	16,6
6,76	0,99947	42,0	80,0	17,1	17,0
6,64	0,00043	41,8	80,0	16,7	17,1
1,84	0,99775	38,7	74,0	17,5	18,3

\* Média de 3 determinações.

Construiu-se um gráfico de  $\frac{1}{c} \ln \frac{t_s \rho_s}{t_0 \rho_0}$  em função de concentração, e extrapolou-se, pelo método dos míni-

mos quadrados, para  $c \rightarrow 0$ . O gráfico se encontra na Figura 14. A extrapolação da reta da Figura 14 forneceu o valor de  $|\eta| = 17,8$ .

Utilizando-se os valores de  $a = 0,50$  e  $K = 97,8 \times 10^{-3}$  ml/g para dextrana de peso molecular na faixa de  $2-10 \times 10^4$ , a  $25^\circ\text{C}$  (50):

$$M = \left( \frac{|\eta|}{K} \right)^{1/a}$$

$$M = 3,3 \times 10^4.$$

O valor de peso molecular (fornecido pela ICN) para a dextrana utilizada é de  $40000 \pm 3000$ .

#### 2.2.4.2. Variação da composição da mistura solvente.

### COMPACTAÇÃO DAS MEMBRANAS

As membranas da Tabela 7 (membranas 1, 2, 3 e 4) foram caracterizadas com o sistema da Figura 12, com um porta-filtro de área útil de  $0,75 \text{ cm}^2$ .

A primeira característica a ser verificada foi a compactação das membranas submetidas a 2 atm. Registraram-se os fluxos de água, submetendo as membranas a essa pressão e repetindo as medidas após sucessivos intervalos de tempo, até que não houvesse grandes variações nos valores de fluxo. Os resultados encontram-se na Tabela 12.

Na Figura 15, os valores da Tabela 12 são apresentados em gráfico de fluxo de água em função do tempo, mostrando o efeito de compactação para membranas obtidas a partir de soluções contendo diferentes proporções de acetona (51).

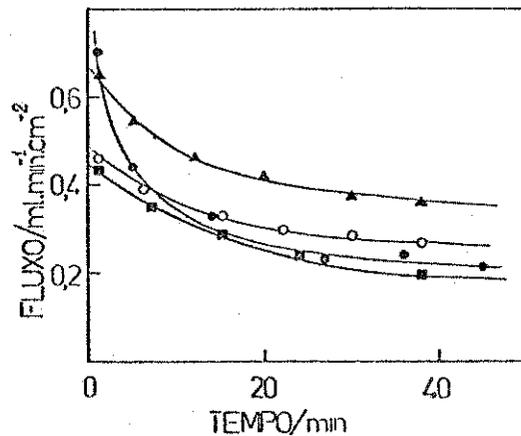


FIGURA 15. Efeito de compactação em membranas obtidas a partir de soluções cuja mistura solvente contém diferentes percentagens de acetona: (●) 0%; (■) 12,5%; (▲) 32,8; (○) 52,1%.

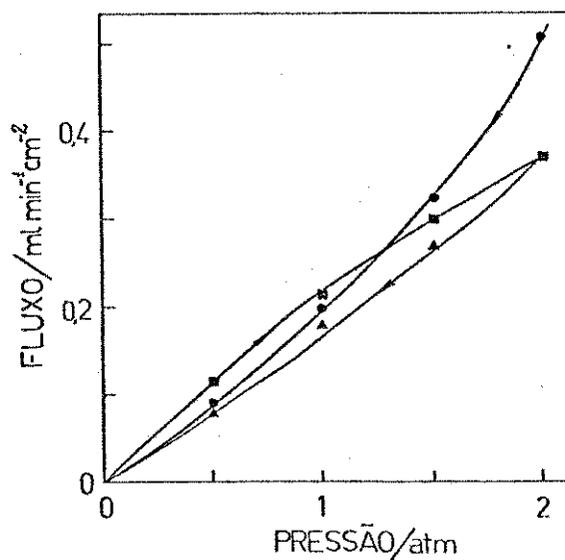


FIGURA 16. Efeito de histerese na compactação da membrana 1, variando a pressão de: (●) 2 a 0 atm, (■) 0 a 2 atm e novamente de (▲) 2 a 0 .

TABELA 12. Efeito de compactação da membrana: variação da resistência ao fluxo de água com o tempo, à pressão de 2 atm (51).

Tempo (min)	Fluxo de água a 2 atm (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )			
	Membrana 1	Membrana 2	Membrana 3	Membrana 4
1	0,70	0,44	0,65	0,46
5	0,42	-	0,54	-
6	-	-	-	0,39
7	-	0,36	-	-
12	-	-	0,46	-
14	0,33	-	-	-
15	-	0,29	-	0,33
20	-	-	0,42	-
22	-	-	-	0,30
24	-	0,24	-	-
27	0,23	-	-	-
30	-	-	0,38	0,28
36	0,23	-	-	-
38	-	0,20	0,36	0,27
45	0,22	-	-	-

#### VARIAÇÃO DE FLUXO E RETENÇÃO COM A PRESSÃO

Foi verificada, também, a variação do fluxo de água com a pressão. Mediram-se os fluxos, submetendo-se as membranas a pressões decrescentes, de 2,0 até 0,5 atm. Repetiram-se as medidas, aumentando-se novamente a pressão até 2 atm e retornando a 0,5 atm. Membranas obtidas a partir de soluções contendo diferentes teores de acetona comportaram-se de maneira análoga. Os valores obtidos para a membrana 1 (0% de acetona) são apresentados na Tabela 13.

A Figura 16 ilustra o efeito de histerese observado com relação ao fluxo de água, quando se diminui e

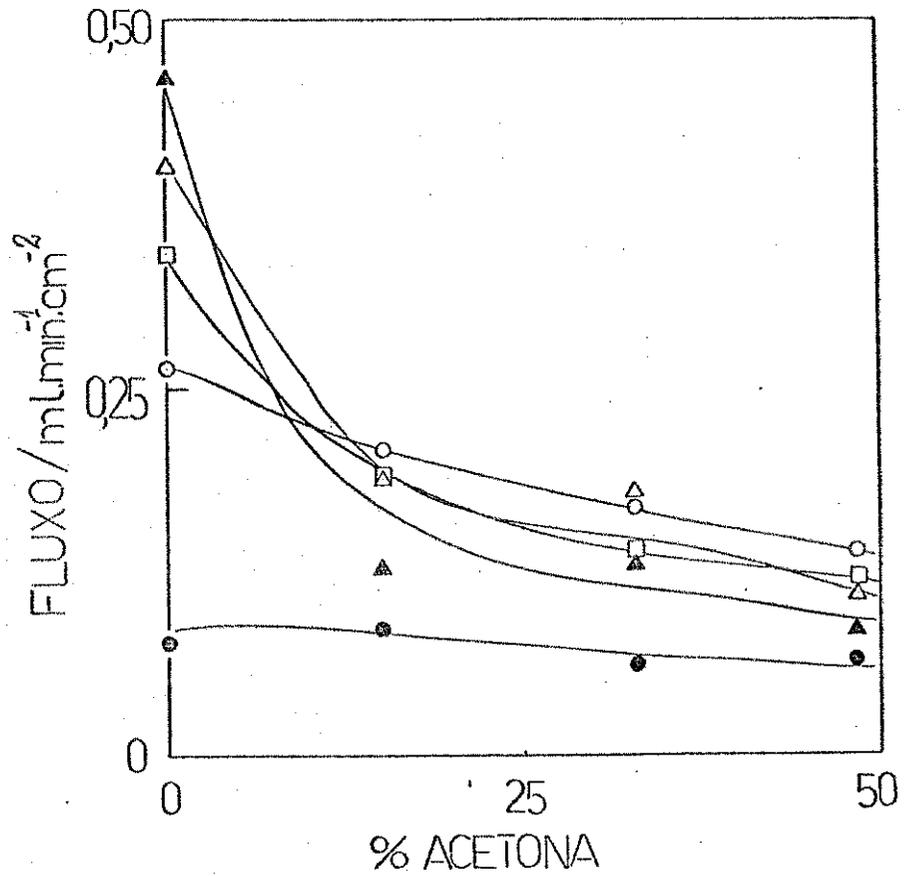


FIGURA 17. Influência da variação da concentração de acetona na mistura solvente do acetato de celulose sobre o fluxo de permeante. Soluções-testes: (o) A, (Δ) B, (□) C, (●) D, (▲) E.

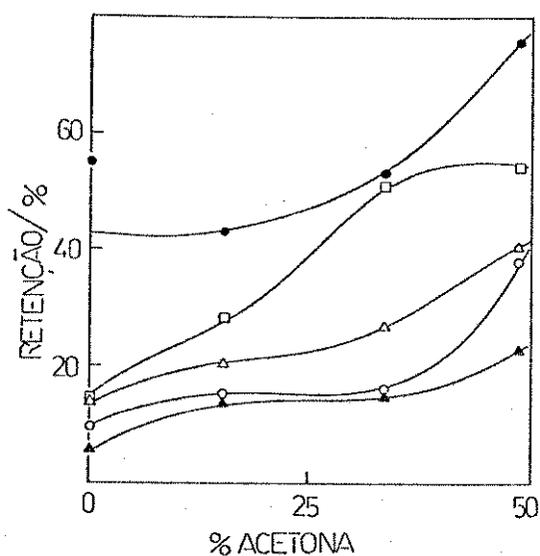


FIGURA 18. Influência da concentração de acetona na mistura solvente do acetato de celulose sobre a retenção de solutos: (o) A, ( $\Delta$ ) B, ( $\square$ ) C, ( $\bullet$ ) D, ( $\blacktriangle$ ) E.

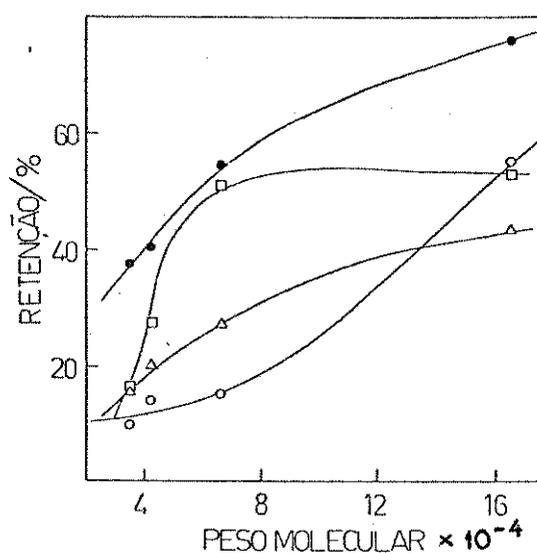


FIGURA 19. Retenções de solutos de diferentes pesos moleculares por membranas obtidas a partir de soluções de acetato de celulose em misturas solventes com proporções de acetona variáveis: (o) 0%, ( $\Delta$ ) 15,1%, ( $\square$ ) 33,1%, ( $\bullet$ ) 48,5%.

se aumenta sucessivamente a pressão (51).

TABELA 13. Variação do fluxo de água através da membrana com a pressão.

Pressão (atm)	Fluxo (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Pressão	Fluxo	Pressão	Fluxo
2,0	0,51	0,5	0,11	1,5	0,27
1,5	0,32	1,0	0,21	1,0	0,18
1,0	0,20	1,5	0,30	0,5	0,076
0,5	0,090	2,0	0,37	2,0	0,34

Verificou-se, então, a variação da retenção com a pressão. O reservatório da Figura 12 foi preenchido com solução 0,1% de gamaglobulina em cloreto de sódio 0,1 M aquoso. Mediu-se o fluxo de permeante e a retenção das membranas a diferentes pressões. Os valores correspondentes à membrana 1 (0% de acetona) encontram-se na Tabela 14.

TABELA 14. Valores de fluxo e retenção de solução 0,1% de gamaglobulina, para a membrana 1, a diferentes pressões.

Pressão (atm)	Fluxo (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Retenção (%)
2,0	0,078	58,9
1,5	0,048	51,7
1,0	0,033	43,6

#### EFICIÊNCIA DO TRATAMENTO TÉRMICO

Investigou-se a eficiência do tratamento térmico após a coagulação das membranas, quanto à retenção de

macrossolutos. Foram preparadas membranas a partir de soluções contendo 10% de acetato de celulose e misturas solventes contendo diferentes proporções de acetona. Parte das membranas obtidas foi mantida em água a 60°C, por uma hora e meia. A caracterização foi efetuada com uma solução aquosa 1% de dextrana (M = 40000), a 2 atm, com o sistema da Figura 12. A Tabela 15 apresenta a caracterização das membranas A e B. Somente as membranas A sofreram tratamento térmico.

TABELA 15. Caracterização de membranas com e sem tratamento térmico, utilizando-se solução 1% de dextrana.

% Acetona na mistura solvente	Fluxo de permeante (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )		Retenção de dextrana (%)	
	A	B	A	B
0	0,91	0,41	7,3	3,2
14,5	0,14	0,21	6,6	5,4
29,6	0,20	0,099	4,2	9,7
32,1	0,062	0,077	12,0	12,2

Verificou-se, que o aquecimento a 60°C não aumentou a seletividade das membranas e, portanto, não justificava a introdução de mais esta etapa no seu preparo. Membranas preparadas desde então, não sofreram mais nenhum tratamento térmico.

#### FLUXO DE PERMEANTE E RETENÇÃO DE SOLUTOS DE VÁRIOS PESOS MOLECULARES

Obtiveram-se membranas a partir de solu

ções com 11% (m/m) de acetato de celulose em mistura solvente, contendo 26% de água e proporções variáveis de acetona e ácido acético. Caracterizaram-se as membranas quanto a fluxo e retenção (sob pressão de 2 atm) com o sistema da Figura 12, utilizando-se soluções-testes de solutos de diferentes pesos moleculares. Os resultados encontram-se na Tabela 16. Os valores da tabela são colocados em gráficos nas Figuras 17, 18 e 19. As membranas não sofreram tratamento térmico.

#### 2.2.4.3. Influência do tempo de evaporação do solvente na preparação da membrana.

Prepararam-se membranas a partir de soluções de composição A e B:

Solução A: 10% (m/m) acetato de celulose  
68% (m/m) ácido acético  
22% (m/m) água

Solução B: 10% (m/m) acetato de celulose  
37% (m/m) ácido acético  
29% (m/m) acetona  
24% (m/m) água.

As condições de preparação foram mantidas aproximadamente constantes para todas as membranas. A temperatura ambiente manteve-se constante com auxílio de um condicionador de ar e variou-se apenas o tempo de evaporação do solvente em cada membrana. Para caracterização utilizou-se uma solução 0,1% de gamaglobulina em NaCl 0,1 M e o sistema da Figura 12. Os resultados encontram-se na Tabela 17 e a Figura 20 ilustra o efeito sobre fluxo e retenção de gamaglobulina.

TABELA 16. Caracterização de membranas obtidas a partir de acetato de celulose em misturas solventes com concentrações variáveis de acetona.

% (m/m) de acetona na mistura solvente	Fluxo de permeante* a 2 atm (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )					Retenção* (%)				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
0	0,26	0,40	0,34	0,077	0,46	9,7	14,1	14,9	54,9	5,4
15,1	0,21	0,19	0,19	0,085	0,13	15,4	20,2	27,3	43,2	13,7
33,1	0,17	0,18	0,14	0,060	0,13	16,3	27,0	51,2	52,8	15,2
48,5	0,14	0,11	0,12	0,064	0,083	37,8	40,7	54,4	75,6	23,0

\* Soluções-testes: (A)  $\beta$ -lactoglobulina (M = 35500) 0,1%  
 (B) ovoalbumina (M = 42700) 0,1%  
 (C) albumina bovina (M = 66000) 0,1%  
 (D) gamaglobulina (M = 165000) 0,1%  
 (E) dextrana (M = 40000) 1,0%

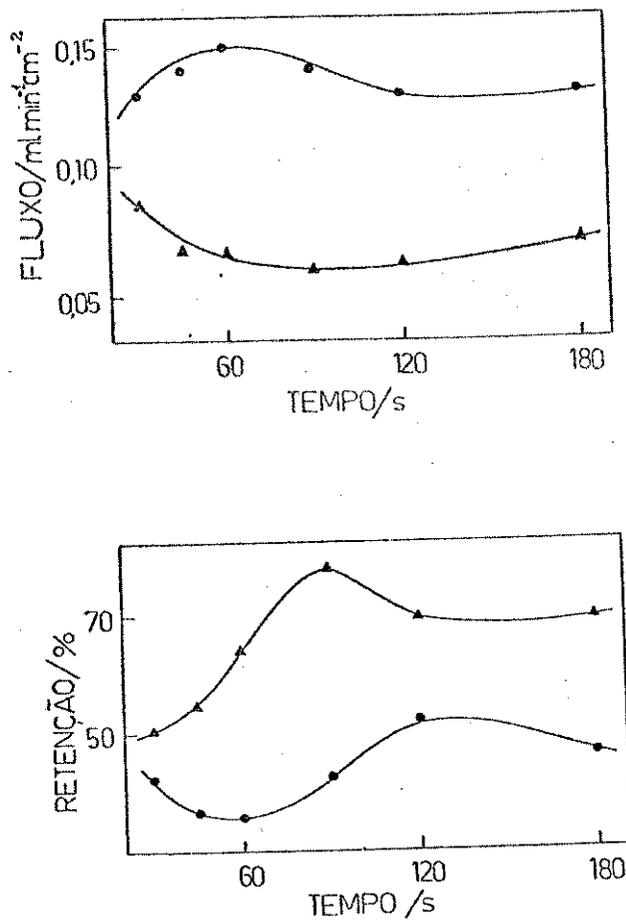


FIGURA 20. Fluxos e retenções de gamaglobulina por membranas preparadas com diferentes tempos de evaporação de solvente, a partir das soluções (●) A e (▲) B.

TABELA 17. Influência do tempo de evaporação de solvente sobre o fluxo e retenção de gamaglobulina.

Tempo de evaporação (s)	Fluxo (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )		Retenção (%)	
	A	B	A	B
30	0,13	0,084	42,5	50,7
45	0,14	0,069	36,6	54,8
60	0,15	0,066	36,1	64,3
90	0,14	0,061	42,4	78,3
120	0,13	0,063	52,4	69,5
180	0,13	0,070	46,2	69,6

2.2.4.4. Influência da espessura do fio de níquel-cromo na preparação da membrana.

Prepararam-se membranas a partir de soluções de composição A e B:

Solução A: 10% (m/m) acetato de celulose  
68% (m/m) ácido acético  
22% (m/m) água

Solução B: 10% (m/m) acetato de celulose  
29% (m/m) acetona  
38% (m/m) ácido acético  
23% (m/m) água

As condições de preparo foram mantidas aproximadamente constantes. O tempo de evaporação do solvente foi igual a 2 minutos e variou-se apenas a espessura do fio de níquel-cromo de 0,20 mm (fio número 32) a 0,51 mm (fio número 24). A caracterização a 2 atm encontra-se na Tabela 18. Foi utilizaa

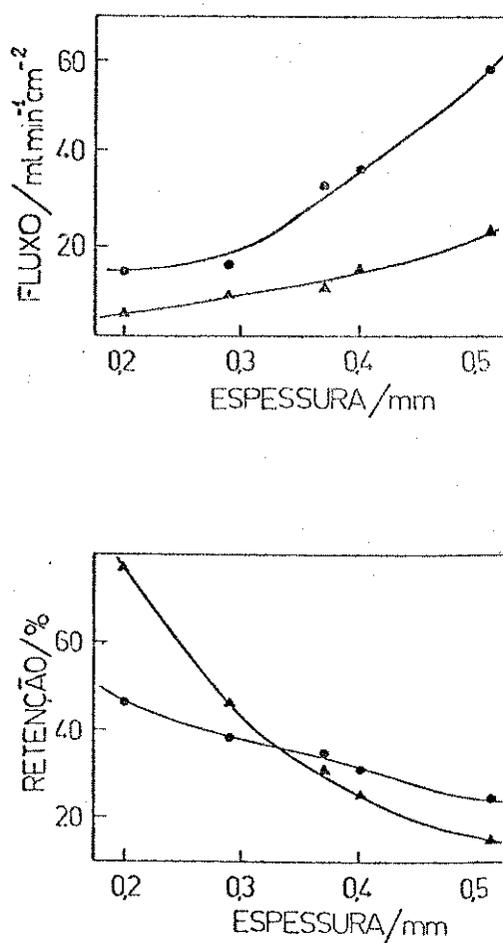


FIGURA 21. Fluxo e retenção de soluções de gamaglobulina por membranas preparadas com fios de níquel-cromo de espessura variável, a partir das soluções (○) A e (▲) B.

da uma solução 0,1% de gamaglobulina em NaCl 0,1 M. A Figura 21 mostra que há um aumento de fluxo e diminuição de retenção com o aumento da espessura das membranas.

TABELA 18. Influência da espessura do fio de níquel-cromo sobre as características das membranas.

Fio Espessura	Nº	Fluxo (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )		Membrana Retenção (%)		Espessura* (mm)	
		A	B	A	B	A	B
0,51	24	0,58	0,23	24,3	15,4	0,218	0,199
0,40	26	0,35	0,15	31,2	25,3	0,173	0,148
0,37	27	0,32	0,11	34,5	31,1	0,178	0,130
0,29	29	0,16	0,093	38,8	46,4	0,120	0,098
0,20	32	0,15	0,056	46,6	77,0	0,080	0,083

\* Determinada com micrômetro, usando-se membranas úmidas.

Membranas preparadas com fios de níquel-cromo mais espessos apresentaram melhor resistência mecânica. Tentou-se combinar o efeito do tempo de evaporação de solvente com o efeito da espessura do fio para obter membranas com características de fluxo e retenção semelhantes às verificadas até então, mas com melhor resistência mecânica.

Prepararam-se membranas a partir de uma solução contendo 11% de acetato de celulose, 35% de ácido acético, 29% de acetona e 24% de água. Utilizaram-se fios de níquel-cromo de 0,40 mm de espessura (fio número 26) e tempos de evaporação do solvente variáveis. A caracterização foi realizada com solução 0,1% de  $\beta$ -lactoglobulina em NaCl 0,1 M e está apresentada na Tabela 19.

TABELA 19. Caracterização de membranas preparadas com fio de níquel-cromo nº 26 e tempo de evaporação de solvente variáveis.

Tempo (min)	Fluxo (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Retenção (%)
2	0,22	11,5
5	0,30	17,3
10	0,19	38,2

Membranas preparadas com a mesma solução, usando-se fios de níquel-cromo de espessura 0,20 mm (fio nº 32) e tempo de evaporação de solvente 2 minutos, apresentaram fluxo médio de permeante igual a 0,17 ml.min<sup>-1</sup>.cm<sup>-2</sup> e retenção média de  $\beta$ -lactoglobulina igual a 23,5%. Assim, as membranas preparadas com fio nº 26 e tempo de evaporação de solvente 10 minutos apresentam características de fluxo e retenção superiores, além de melhor resistência mecânica.

#### 2.2.5. Impregnação de Membranas de Acetato de Celulose com Precipitados Inorgânicos.

Promoveu-se a formação de precipitados sobre membranas de acetato de celulose, de maneira que preenchessem seus poros, tornando-as seletivas a solutos menores.

Investigaram-se alguns precipitados com base no trabalho de Walden (57), que fez impregnações em vidro poroso. Cada membrana foi mergulhada na solução que continha o cátion (ou o ânion) responsável pela formação do precipitado. O excesso de solução foi eliminado com auxílio de papel de filtro e a membrana foi imersa na solução que continha o ânion (ou o cátion)

correspondente. Utilizaram-se as seguintes soluções aquosas:

Ferrocianeto de potássio 5%

Cloreto de cobre II 5%

Nitrato de níquel 5%

Nitrato de cobalto 5%

A membrana impregnada foi obtida a partir de uma solução cuja mistura solvente continha apenas água e ácido acético, tempo de evaporação de solvente 2 minutos e fio de níquel-cromo nº 32. A caracterização foi efetuada a 2 atm com uma solução 0,1% de inibidor de tripsina de soja ( $M = 24000$ ) e os valores encontram-se na Tabela 20.

Impregnações realizadas pelo método acima não apresentaram resultados muito satisfatórios. Impregnaram-se, então, membranas com hidróxidos de ferro e alumínio. A membrana de acetato de celulose foi imersa em solução de sulfato de alumínio ou de sulfato de ferro e amônio e depois foi colocada em atmosfera de amônia, após ser eliminado o excesso de solução com papel de filtro. A impregnação com hidróxido de alumínio não se mostrou muito eficiente, mas os resultados com hidróxido de ferro motivaram maior exploração deste procedimento. Resultados referentes à impregnação com hidróxidos de ferro e alumínio encontram-se, também, na Tabela 20.

As membranas de acetato de celulose cuja caracterização foi apresentada na Tabela 16 foram impregnadas com hidróxido de ferro da seguinte maneira. Mergulharam-se as membranas em solução 1 M de nitrato férrico e eliminou-se o excesso de solução com papel de filtro. As membranas foram, então, suspensas em um recipiente fechado contendo solução 1% de hidróxido de

TABELA 20. Caracterização de membranas de acetato de celulose, impregnadas com precipitados inorgânicos.

Solução-teste: inibidor de tripsina (M=24000) 0,1%.

Material impregnante	Fluxo (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Retenção (%)
—	0,47	15,2
Ferrocianeto de cobre	0,15	30,3
Ferrocianeto de níquel	0,22	34,8
Ferrocianeto de cobalto	0,20	17,4
Hidróxido de alumínio	0,34	18,4
Hidróxido de ferro	0,21	53,8

amônio. A membrana suspensa de modo a não entrar em contato com a solução e a impregnação foi considerada completa após 30 ou 40 minutos, quando toda a membrana adquiriu uma coloração castanha uniforme. A caracterização destas membranas impregnadas, obtidas a partir de soluções de acetato de celulose em misturas solventes com diferentes concentrações de acetona, está apresentada na Tabela 21.

#### 2.2.6. Microscopia Óptica e Eletrônica

Membranas obtidas a partir de soluções de acetato de celulose em mistura solvente contendo diferentes percentagens de acetona foram observadas por transmissão em microscópio óptico. Nikon Apophot (Nippon Kogaku K.K. - Japan). Fragmentos de cada membrana foram colocados úmidos nas lâminas do microscópio. A Figura 22 mostra uma série de micrografias correspondentes a membranas obtidas de soluções com diferentes percentagens de acetona. São apresentadas, também, micrografias dos

TABELA 21. Caracterização de membranas de acetato de celulose impregnadas com hidróxido de ferro.

% (m/m) de acetona na mistura solvente	Fluxo de permeante* a 2 atm (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )			Retenção* (%)		
	A	B	C	A	B	C
0	0,041	0,039	0,036	61,6	54,2	33,1
15,1	0,031	0,054	0,038	59,9	43,9	32,1
33,1	0,037	0,025	0,058	58,8	53,9	25,0
48,5	0,048	0,036	0,051	50,8	53,2	29,6

\* Soluções-testes: (A)  $\beta$ -Lactoglobulina (M = 35500) 0,1%

(B) Ovoalbumina (M = 42700) 0,1%

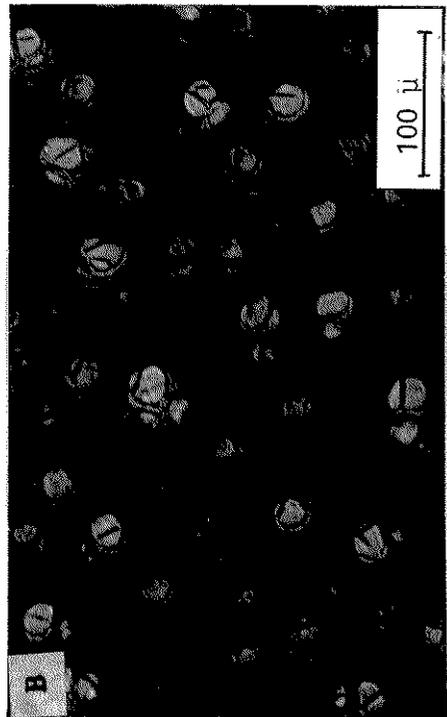
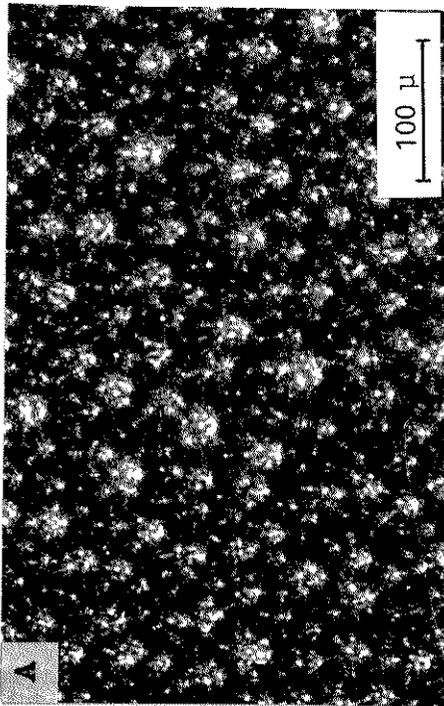
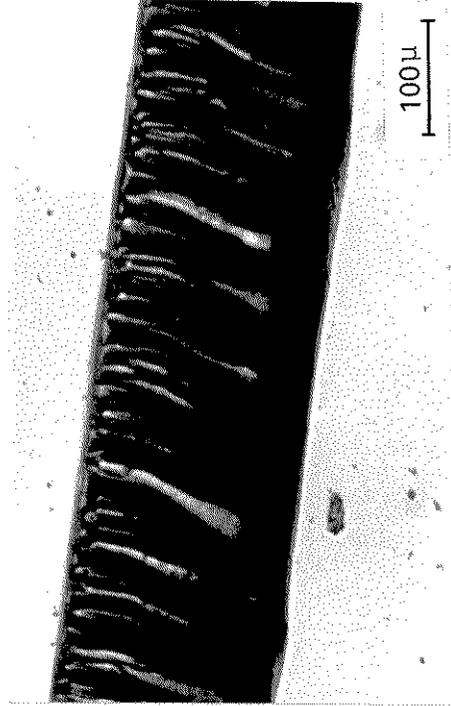
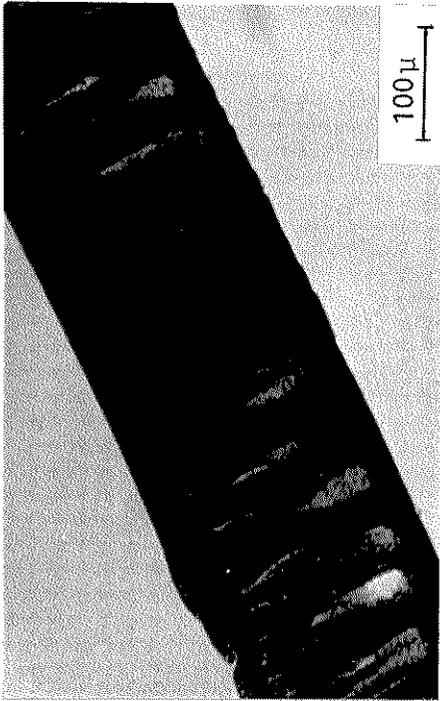
(C) Dextrana (M = 40000) 1,0%.

cortes transversais de cada membrana. Observaram-se diferenças acentuadas na estrutura das membranas. Membranas obtidas a partir de soluções com maior concentração de acetona apresentam uma estrutura mais densa, esponjosa com algumas cavidades que se tornam mais escassas com o aumento do teor de acetona. As Figuras 23 e 24 mostram uma série de micrografias correspondentes à secagem de membranas obtidas a partir de soluções com misturas solventes contendo, respectivamente, 15 e 75% de acetona. As micrografias foram obtidas observando-se as membranas inicialmente úmidas durante alguns minutos no microscópio. A secagem ilustra a estrutura celular das membranas onde a água está contida em compartimentos. Estes compartimentos se manifestam como pontos escuros que vão aparecendo durante a secagem. No caso da membrana cuja solução de partida continha menor teor de acetona, os pontos são maiores e correspondem, provavelmente, às cavidades que aparecem na Figura 22.b. Na membrana obtida a partir de

solução com maior teor de acetona aparecem pontos menores que correspondem a cada célula da estrutura esponjosa. Depois de seca esta parte da estrutura, a água deixa as cavidades maiores e a região da micrografia correspondente a cada cavidade escurece de uma só vez.

As membranas foram observadas, também em microscópio eletrônico de reflexão JEOL JSM-P15. Fragmentos de cada membrana foram liofilizados utilizando-se nitrogênio líquido. Cada fragmento foi montado nos suportes adequados e as amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro e introduzidas no microscópio. A face mais fechada da membrana não apresentou contraste suficiente e, assim, não foi possível avaliar o tamanho dos poros responsáveis pela sua seletividade. A Figura 25 mostra a face mais aberta de uma membrana obtida a partir de solução de acetato de celulose em mistura solvente contendo 15% de acetona. A observação da mesma face de membranas obtidas a partir de soluções com diferentes concentrações de acetona não revelou mudanças acentuadas na estrutura, apenas uma pequena variação no tamanho dos poros.

A Figura 26 apresenta uma série de micrografias representando cortes transversais das membranas. A Figura 26.a representa uma visão inclinada (aproximadamente  $40^{\circ}$ ) de um corte correspondente a membrana de acetato de celulose cuja mistura solvente não continha acetona. Pode-se observar a face mais fechada da membrana. A Figura 26.b representa uma visão inclinada de um corte da membrana referente a mistura solvente com 15% de acetona, onde se observa sua face mais aberta. As Figuras 26.c e 26.d mostram, respectivamente, membranas obtidas a partir de soluções com 33 e 49% de acetona na mistura solvente.



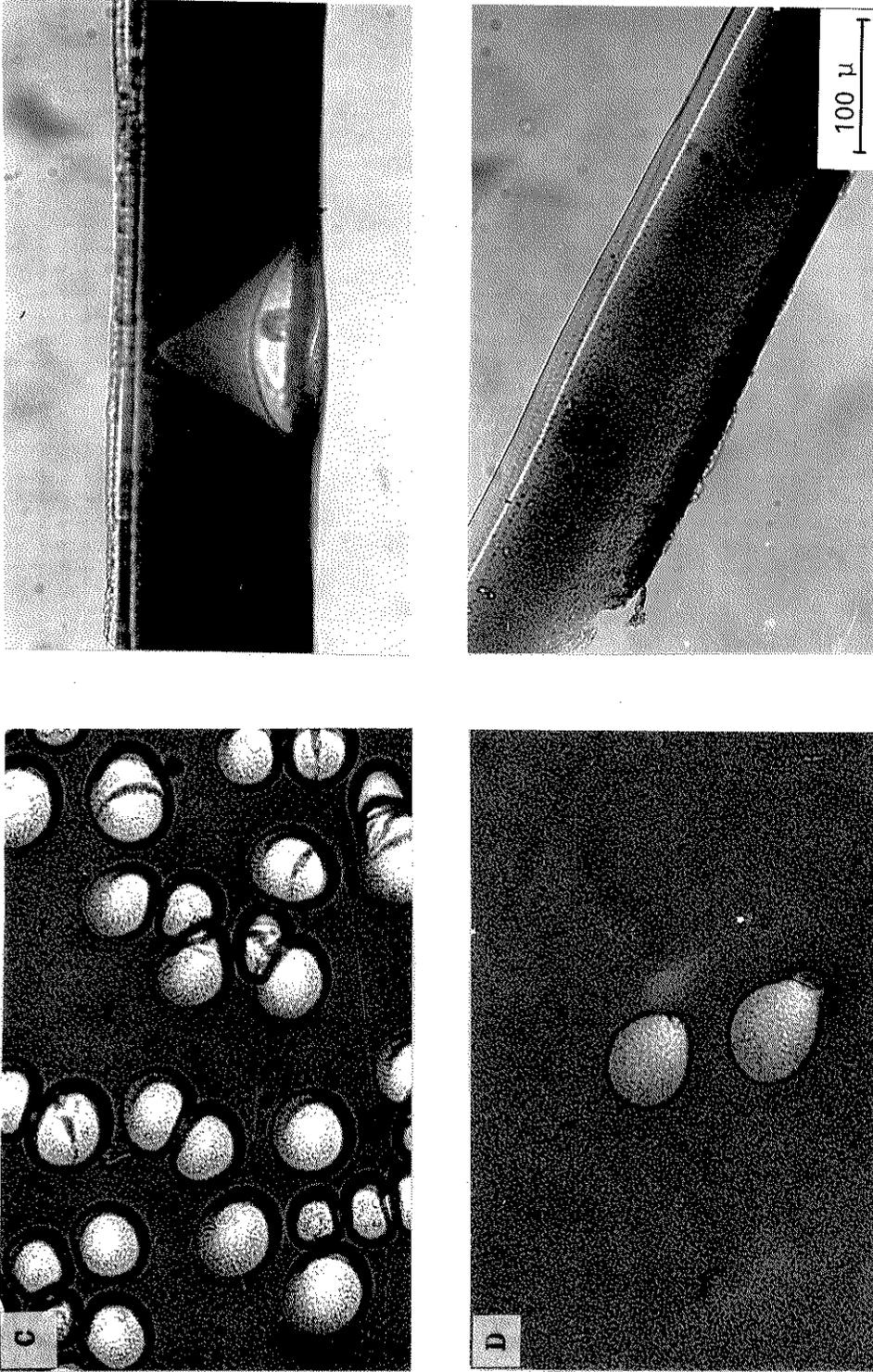


FIGURA 22. Membranas de acetato de celulose e os respectivos cortes transversais em microscópio óptico. Misturas solventes contendo diferentes proporções de acetona: (A) 0%, (B) 15%, (C) 33%, (D) 49%.

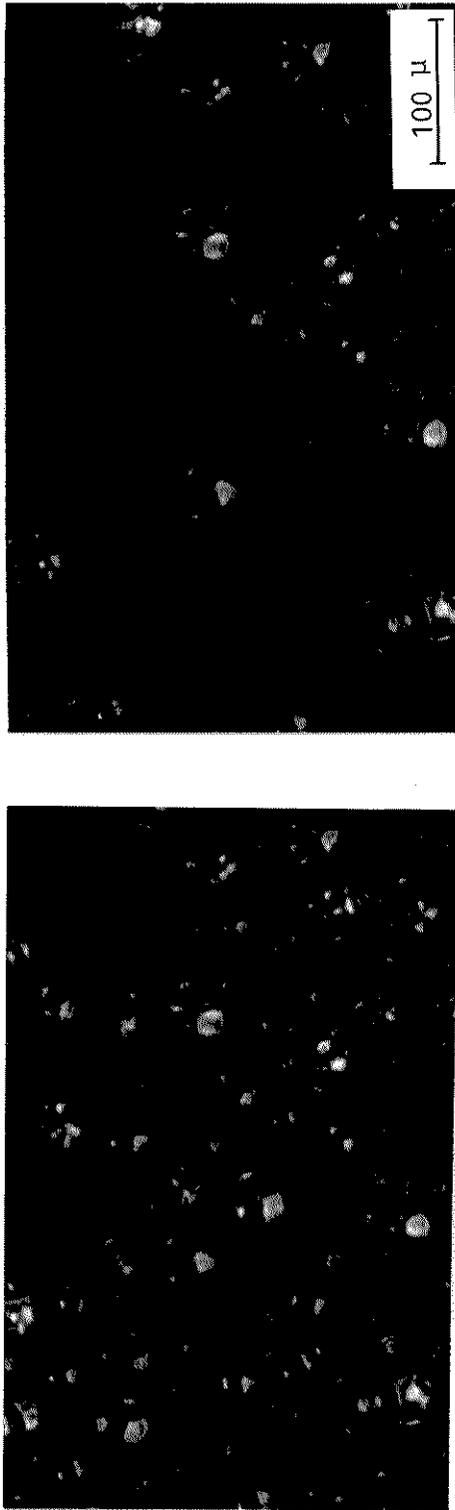


FIGURA 23. Secagem de membrana obtida a partir de soluções de acetato de celulose em mistura solvente contendo 15% de acetona, em microscópio óptico.

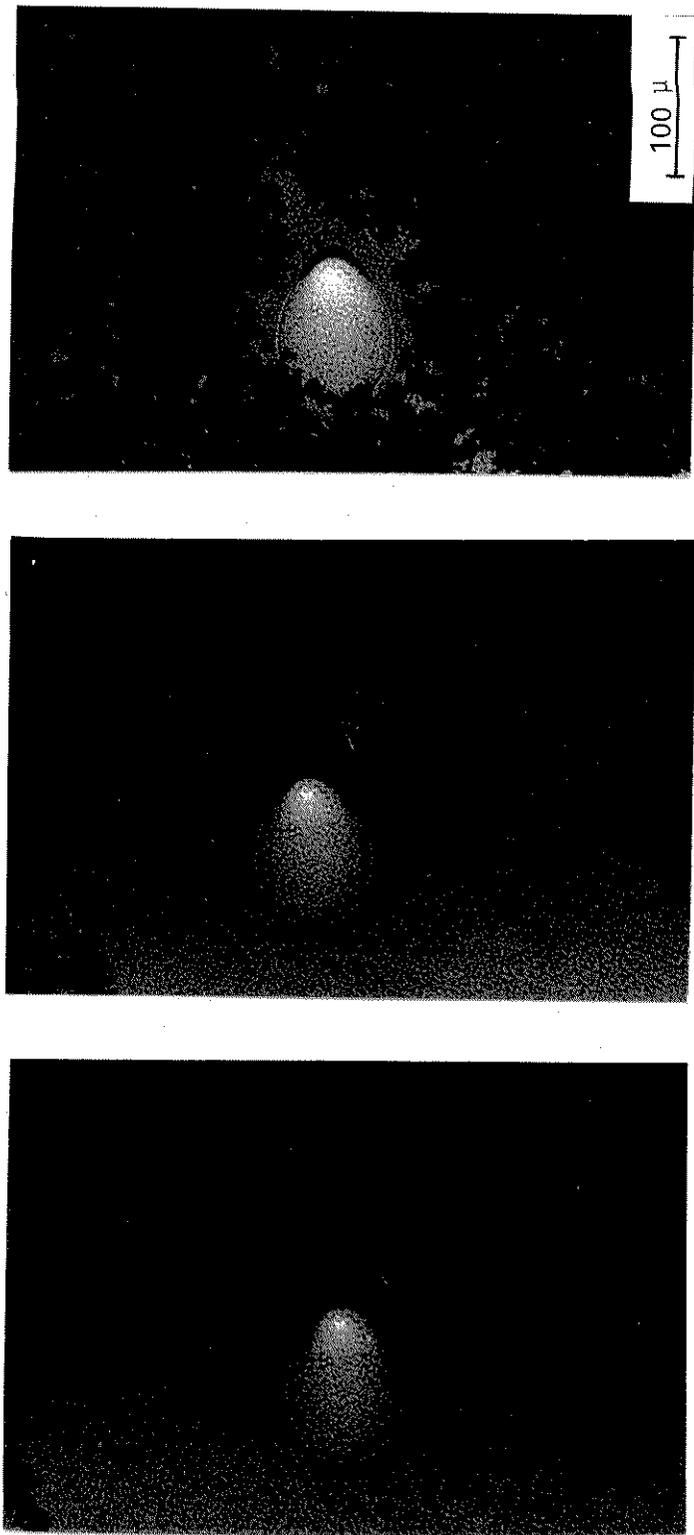


FIGURA 24. Secagem de membrana obtida a partir de soluções de acetato de celulose em mistura solvente contendo 75% de acetona, em microscópio óptico.

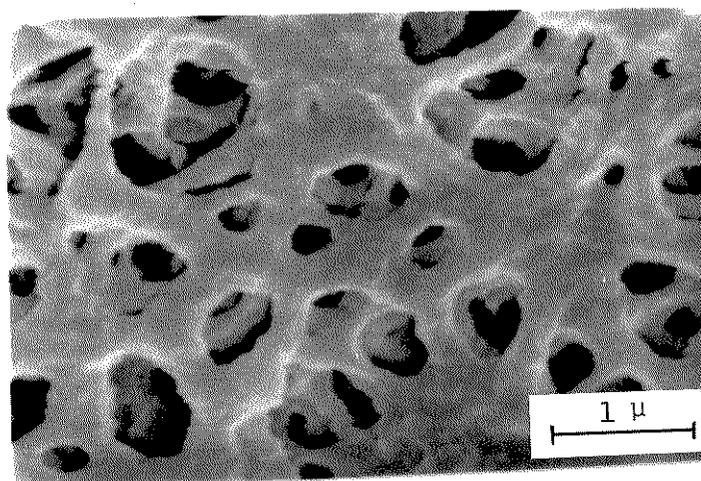


FIGURA 25. Face mais aberta de membrana obtida a partir de solução de acetato de celulose em mistura solvente contendo 15% de acetona, em microscópio eletrônico.

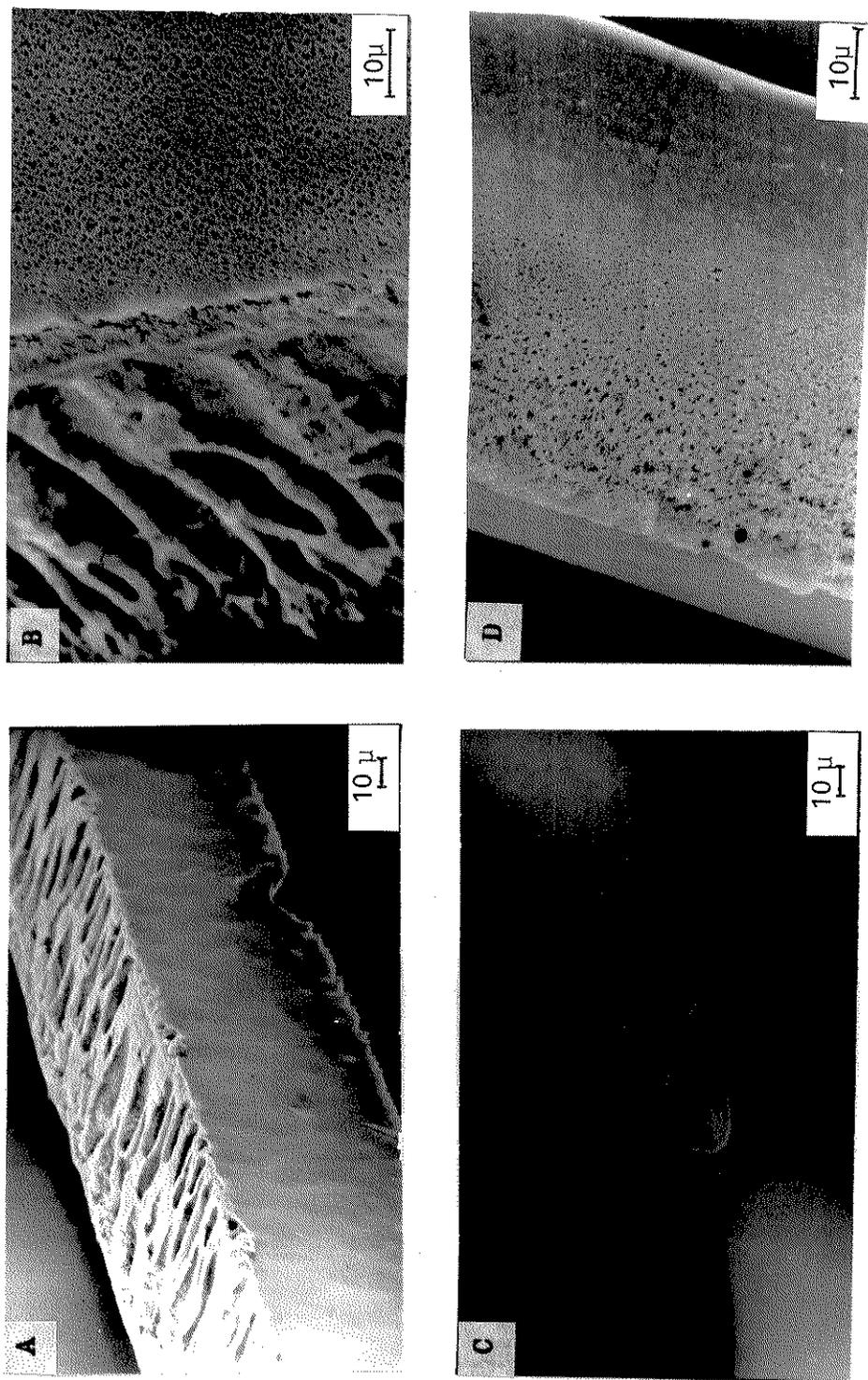


FIGURA 26. Cortes transversais de membranas obtidas a partir de solução de acetato de celulose em mistura solvente contendo diferentes concentrações de acetona: (A) 0%, (B) 15%, (C) 33%, (D) 49%, em microscópio eletrônico.

As membranas observadas em microscópio eletrônico, bem como os cortes observados em microscópio óptico foram feitas com fio nº 26 (espessura 0,40 mm). As membranas observadas em microscópio óptico foram feitas com fio nº 32 (espessura 0,20 mm).

#### 2.2.7. Estimativa de Erros

Escolheu-se aleatoriamente uma série de medidas experimentais, calculou-se o desvio padrão e aplicou-se o teste de Student (58), com 95% de segurança.

A determinação, a 2 atm, da permeabilidade de diferentes membranas, obtidas de um mesmo filme, mostra desvio relativo de  $\pm 5\%$ . Quando consideramos membranas distintas obtidas a partir de uma única solução, este desvio sobe a 10%. Este erro pode ser atribuído a pequenas variações durante o processo de espalhamento da solução sobre a placa de vidro: presença de corrente de ar, variação da umidade do ar e temperatura ambiente, embora se tenha procurado controlar estes fatores com o uso de condicionador de ar e outros cuidados.

A determinação de fluxo de membranas obtidas a partir de soluções diferentes, mas de composições semelhantes está sujeita a uma variação de 18%. Além dos fatores de erro já mencionados, deve-se considerar que uma pequena variação na composição das soluções pode alterar as características das membranas obtidas. Neste caso, observam-se desvios relativos na retenção, de solutos de até 17%. Nos experimentos de osmossedimentação, o desvio relativo na retenção de solutos é aproximadamente de 14% e cai a 6% para solutos de peso molecular mais alto (gamaglobulina).

### 2.3. Osmossedimentação

O objetivo desta parte do trabalho foi verificar a eficiência das membranas de acetato de celulose em osmossedimentação.

Prepararam-se membranas a partir de solução 11,5% (m/m) de acetato de celulose em mistura solvente contendo 26,7% de água e proporções variáveis de acetona e ácido acético, usando-se fio de níquel-cromo número 26 (espessura 0,40 mm) e tempo de evaporação de solvente 10 minutos.

As membranas foram testadas com soluções 1% de gamaglobulina, 1% de albumina bovina e 1% de ovoalbumina (todas em NaCl 0,1 M aquoso). Utilizou-se uma centrífuga refrigerada RC-3B da Sorvall Instruments e montaram-se as membranas em células de acrílico semelhantes àquela apresentada na Figura 27. Cada célula era composta por 2 placas de acrílico de 9,5 cm por 4 cm, escavadas, permitindo a formação de dois compartimentos separados por uma área útil de  $10 \text{ cm}^2$  de membrana, com um volume de  $3 \text{ cm}^3$  cada um. As duas placas são parafusadas uma na outra, colocando-se uma folha de polietileno vazada entre elas. Para evitar vazamentos, cada célula era protegida por 2 molduras de alumínio de 2 mm de espessura, parafusadas com as placas de acrílico.

Testes foram efetuados preenchendo-se um dos compartimentos com a solução de proteína em NaCl 0,1 M aquoso e o outro com solução de NaCl de mesma concentração. Células com membranas diferentes foram deixadas em centrífuga a 2000 RPM e  $4^\circ\text{C}$  por 24 h. O volume do compartimento correspondente à solução foi dividido em cinco partes e cada fração foi sucessivamente retirada, do topo ao fundo, com o auxílio de uma seringa. Recolheu-

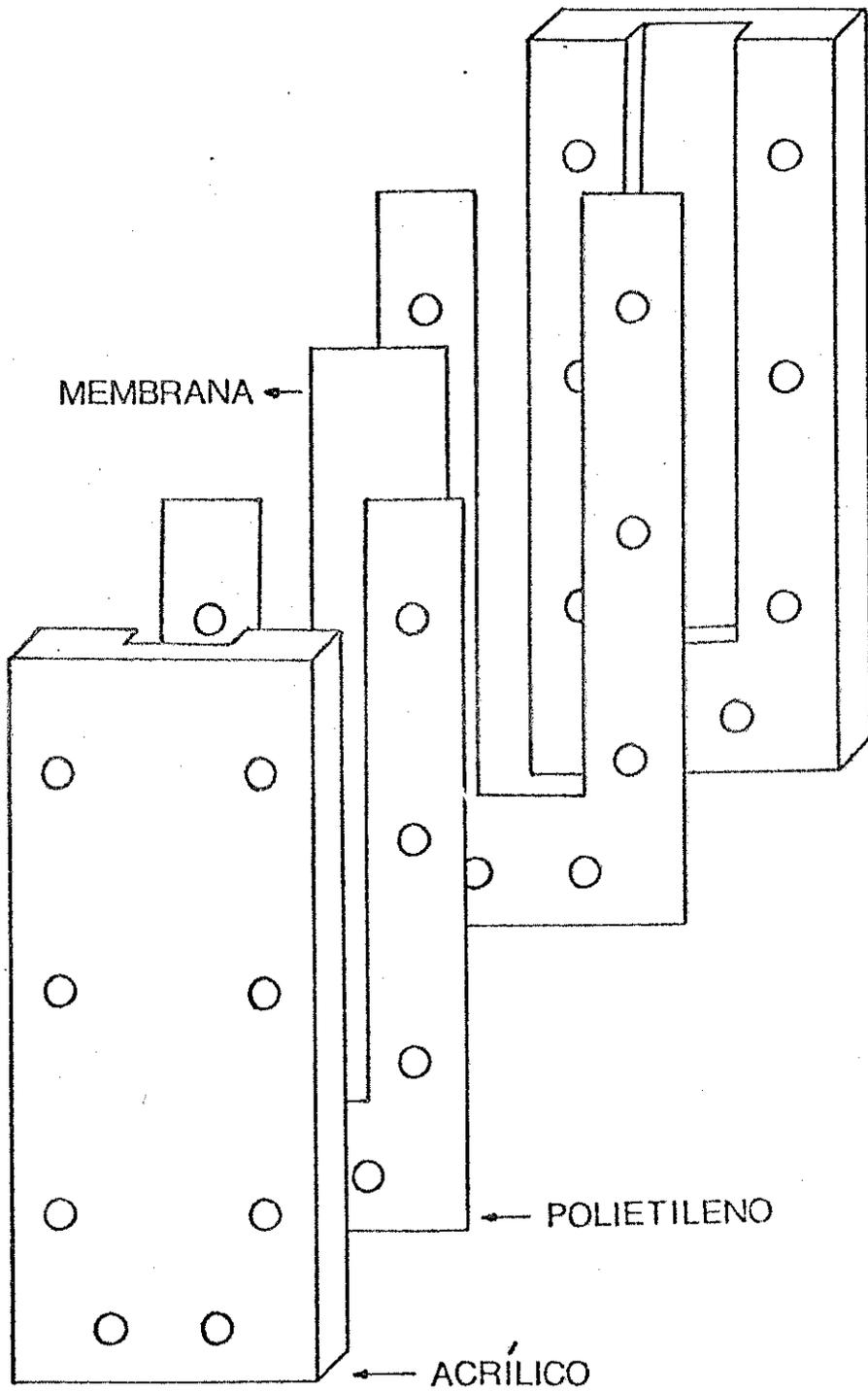


FIGURA 27. Célula de acrílico para osmossedimentação.

se, também, a solução correspondente ao solvente homogeneizado. Cada fração foi diluída, com pipetador automático CACIL de 0,1 ml (cuja capacidade real foi verificada ser igual a  $0,1186 \pm 0,0006$  ml) e bureta de pistão Metrohm AG Herisau de 10 ml, até que a concentração adequada para leitura de absorvância fosse obtida. A absorvância foi lida a 280 nm, em espectrofotômetro Zeiss PMQ-II.

Os resultados obtidos estão na Tabela 22.

TABELA 22. Caracterização de membranas de acetato de celulose quanto a sua eficiência em osmosedimentação.

Solução 1% de gamaglobulina (A = 11,9)

Membrana % Acetona na mistura solvente	Absorvância*					Solvente	Retenção (%)
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75		
0	0,426	0,858	1,65	3,91	22,0	1,01	91,5
	1,30	2,28	3,07	7,59	29,5	1,55	87,0
15,7	0,468	1,14	2,25	5,45	37,4	0,370	96,9
	0,660	0,978	1,69	5,89	30,8	0,578	95,1
31,6	0,468	0,744	1,36	3,47	31,9	0,084	99,3
	0,768	2,35	2,35	6,44	25,7	0,800	93,3
49,4	1,07	1,57	3,08	7,04	34,1	0,176	98,5
	1,80	3,15	5,64	13,4	29,7	0,635	94,7

TABELA 22 — Continuação

## Solução 1% de albumina bovina (A = 5,85)

Membrana % Acetona na mistura solvente	Absorbância* Alturas médias (cm)					Solvente	Retenção (%)
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75		
0	1,71	3,18	3,55	4,15	4,75	2,60	55,6
	1,09	1,79	2,46	3,39	4,50	2,36	59,7
15,7	0,96	1,52	2,12	3,75	6,06	1,50	74,4
	1,21	1,92	2,83	4,65	7,68	1,50	74,4
31,6	1,26	2,19	3,73	6,00	8,40	1,16	80,2
49,4	1,46	2,34	3,83	5,94	8,40	0,545	90,7

## Solução 1% de ovoalbumina (A = 5,73)

Membrana % Acetona na mistura solvente	Absorbância* Alturas médias (cm)					Solvente	Retenção (%)
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75		
0	1,77	2,65	3,31	4,05	4,86	2,80	51,1
	1,92	2,79	3,47	4,02	4,92	2,60	54,6
15,7	1,27	1,80	2,55	4,11	4,62	1,55	73,0
	1,63	2,27	2,68	3,42	4,56	2,35	59,0
31,6	1,16	1,77	2,56	4,02	6,24	1,20	79,1
	2,16	2,91	3,78	5,01	6,72	1,90	66,8
49,4	1,73	2,46	3,53	5,46	7,56	0,428	92,5
	1,97	2,76	3,93	5,79	7,56	0,930	83,8

\* As absorbâncias foram corrigidas levando em consideração a diluição necessária para a leitura. Devido a deformação da membrana e consequente variação de volume dos compartimentos da célula, não é possível fazer cálculos significativos de balanço material.

A Figura 28 mostra concentração da solução em função do quadrado da distância entre pontos da célula e o centro de rotação ( $r^2$ ).

Foram calculados os gradientes de concentração teóricos esperados, considerando comportamento ideal, quando o equilíbrio de sedimentação fosse alcançado. Determinaram-se os valores de  $dlnc/dr^2$  através da equação:

$$\frac{dlnc}{dr^2} = \frac{\omega^2 M (1 - \bar{v}\rho)}{2 RT} \quad (59)$$

onde  $\omega$  = velocidade angular =  $2\pi \frac{2000}{60} = 209 \text{ s}^{-1}$

$T = 277 \text{ K}$

$R = 8,314 \times 10^7 \text{ g s}^{-2} \text{ K}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$

Conhecida a absorvância da solução homogênea (a tempo zero), utilizou-se a equação abaixo (60) para determinar o valor de  $r$  no qual a concentração da solução após o estabelecimento do equilíbrio fosse igual à concentração da solução homogênea inicial.

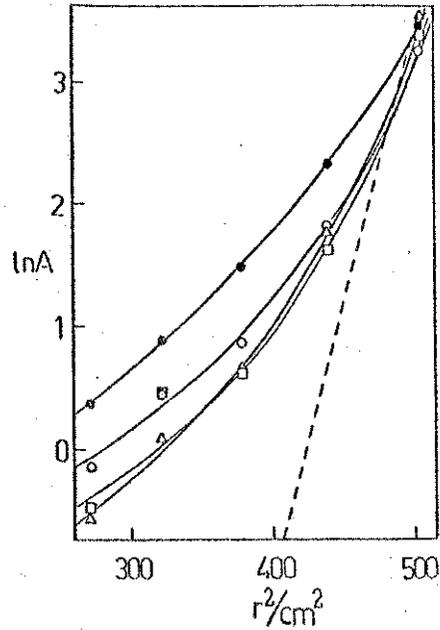
$$\frac{c(r)}{c_0} = \frac{\frac{M\omega^2 (1-\bar{v}\rho)}{2 RT} (r_f^2 - r_t^2) \exp \left| -\frac{M\omega^2 (1-\bar{v}\rho)}{2 RT} (r_f^2 - r^2) \right|}{1 - \exp \left| -\frac{M\omega^2 (1-\bar{v}\rho)}{2 RT} (r_f^2 - r_t^2) \right|}$$

onde  $r_t$  = distância do centro de rotação ao topo da célula =  
= 15,7 cm.

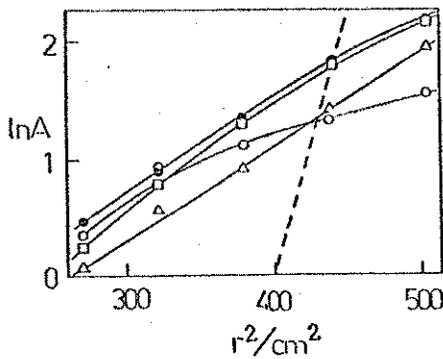
$r_f$  = distância do centro de rotação ao fundo da célula =  
= 23,2 cm.

$c_0$  = concentração da solução homogênea (a tempo zero).

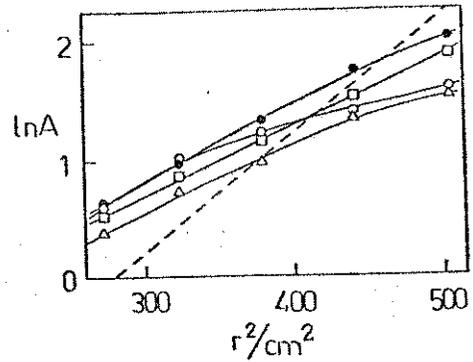
As curvas teóricas determinadas pelos valores da Tabela 23 aparecem tracejadas na Figura 28.



A



B



C

FIGURA 28. Gradiente de concentração em função de  $r^2$  para soluções (a) de concentração inicial igual a 1% de gamaglobulina, (b) 1% de albumina bovina e (c) 1% de ovalbumina em células com membranas obtidas a partir de soluções de acetato de celulose em misturas solventes com as seguintes percentagens de acetona: (o) 0%, ( $\Delta$ ) 15,7%, ( $\square$ ) 31,6% e ( $\bullet$ ) 49,4%, após 24 h a 2000 RPM. Curvas calculadas, admitindo atingimento de equilíbrio.

TABELA 23. Cálculo do gradiente de concentração teórico na osmossedimentação de proteínas a 2000 RPM.

	M (g.mol <sup>-1</sup> )	$\bar{v}$ (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )	$\frac{d\ln c}{dr^2}$ (cm <sup>-2</sup> )	r <sub>0</sub> * (cm)
gamaglobulina	165000 (52)	0,720 (61)	0,044	21,9
albumina bovina	66000 (54)	0,734 (61)	0,017	21,0
ovoalbumina	42700 (55)	0,748 (61)	0,010	20,6

\* Valor de r onde  $c(r) = c_0$ .

A partir dos valores de retenção da Tabela 22 e dos gradientes de concentração ilustrados na Figura 28, foi escolhida a composição da solução que daria origem às membranas mais adequadas a experimentos de osmossedimentação com cada proteína. Verificou-se que membranas de retenção baixa prejudicavam os experimentos devido à passagem de soluto para o outro compartimento e eram também responsáveis por gradientes de concentração menos acentuados. Membranas obtidas a partir de soluções contendo maior teor de acetona, apesar de apresentarem retenção alta, em alguns casos retardavam a formação de gradiente de concentração, devido à baixa permeabilidade à água.

### 2.3.1. Osmossedimentação de Dextrana Azul

Antes de serem realizados experimentos de osmossedimentação com proteínas, investigou-se o comportamento da dextrana azul ( $M = 2 \times 10^6$ ). As medidas de absorvância foram efetuadas a 620 nm, em espectrofotometro Zeiss PMQ-II. Nos experimentos foram utilizadas células de acrílico iguais à descrita na Figura 27. As membranas utilizadas foram obtidas a partir de solução 11% (m/m) de acetato de celulose em mistura solvente, con

tendo 15% de acetona, 25% de água e 60% de ácido acético, sendo utilizado tempo de evaporação de solvente de 10 minutos e fio de níquel-cromo nº 26 (espessura 0,40 mm).

Foram efetuados experimentos com dextrana azul a 2000 e 3000 rpm a diversos tempos em centrífuga refrigerada a 20°C. Utilizaram-se soluções 1,00%, 0,50%, 0,25%, 0,125% de dextrana azul em cloreto de sódio 0,1 M aquoso. Os resultados são apresentados na Tabela 24 e correspondem a uma média de 3 experimentos cada um. Cada experimento de osmossedimentação foi acompanhado por um controle, isto é, uma célula de acrílico, cuja membrana foi substituída por uma folha (impermeável) de polietileno, submetida às mesmas condições que as células com membrana.

A Figura 29 mostra o gradiente de concentração observado ao longo da célula. Os valores calculados de  $dlnc/dr^2$  considerando sistema ideal são  $0,72 \text{ cm}^{-2}$  e  $1,62 \text{ cm}^{-1}$  para 2000 rpm e 3000 rpm respectivamente. Curvas teóricas referentes à solução mais concentrada aparecem tracejadas nos gráficos e ilustram como as curvas experimentais estão longe do estado de equilíbrio para sistema ideal.

A Figura 30 mostra como a concentração inicial da solução a ser sedimentada influencia no tempo de atingimento do estado de equilíbrio. Mesmo após 30 horas, o equilíbrio não foi atingido para nenhuma concentração, mas observou-se que soluções de concentrações mais baixas encontravam-se mais distantes do equilíbrio após um mesmo tempo de experimento.

O não atingimento do estado de equilíbrio de sedimentação impede a aplicação do tratamento teórico tradicional,

TABELA 24. Osmossedimentação de dextrana azul.

Condições de trabalho: 2000 RPM

Concentração inicial = 1,00%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	0,730	2,01	5,13	8,68	16,2	0,102
controle	6,40	8,10	8,42	8,40	8,40	-
8	0,590	1,32	2,86	7,92	21,3	0,033
controle	6,42	7,56	7,68	7,92	8,10	-
14	0,308	0,546	1,48	6,28	25,2	0,034
20	0,258	0,420	1,11	4,78	24,9	0,083
controle	6,48	6,72	7,20	7,32	8,28	-
30	0,162	0,280	0,700	4,97	26,1	0,056
controle	6,60	7,38	7,66	7,20	8,34	-

Condições de trabalho: 2000 RPM

Concentração inicial = 0,50%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	1,26	2,33	3,60	5,04	7,27	0,027
controle	3,61	4,02	3,77	4,14	4,11	-
8	0,680	1,54	2,74	4,44	8,94	0,013
controle	3,78	3,96	4,02	4,14	4,26	-
14	0,354	0,726	1,53	3,93	12,8	0,011
controle	3,89	3,90	3,99	4,01	4,08	-
20	0,204	0,410	0,980	2,89	14,3	0,015
controle	3,36	3,76	3,97	4,11	4,41	-
30	0,096	0,304	0,704	2,23	14,5	0,011
controle	3,81	3,78	3,91	4,31	4,82	-

Condições de trabalho: 2000 RPM

Concentração inicial = 0,25<sub>0</sub>%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	1,21	1,54	1,87	2,30	3,01	0,006
controle	1,90	2,01	1,96	2,08	2,08	-
8	0,676	1,22	1,78	2,25	4,32	0,004
controle	1,94	1,98	2,02	2,02	2,05	-
14	0,404	0,720	1,22	2,13	5,86	0,005
controle	1,92	2,00	2,01	2,02	2,10	-
20	0,232	0,516	0,968	1,92	5,56	0,007
controle	1,92	1,96	1,98	1,98	2,29	-
30	0,188	0,384	0,740	1,67	5,94	0,004
controle	2,04	2,14	2,04	2,14	2,26	-

Condições de trabalho: 2000 RPM

Concentração inicial = 0,12<sub>5</sub>%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	0,792	0,940	1,01	1,14	1,30	0,017
controle	0,708	0,762	0,786	0,858	0,860	-
8	0,616	0,850	1,02	1,11	1,38	0,007
controle	0,930	0,978	0,978	1,13	1,08	-
14	0,435	0,699	0,945	1,43	1,92	0,009
controle	0,912	1,03	1,00	1,01	1,07	-
20	0,470	0,642	0,800	1,08	1,96	0,010
controle	0,840	1,01	1,06	1,06	1,09	-
30	0,170	0,340	0,646	1,14	2,76	-
controle	0,708	0,882	1,20	1,17	0,96	0,012

Condições de trabalho: 3000 RPM

Concentração inicial = 1,00%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	0,374	0,768	1,97	6,64	22,4	0,035
controle	6,60	7,50	7,68	7,80	8,16	-
8	0,206	0,354	0,822	3,83	28,8	0,075
controle	6,48	6,96	7,56	7,80	8,76	-
14	0,180	0,198	0,452	2,51	30,7	0,070
controle	6,00	7,08	7,50	7,92	8,82	-
20	0,154	0,198	0,434	3,04	26,0	0,111
controle	5,40	6,48	7,32	7,80	9,18	-
30	0,056	0,086	0,228	2,22	28,6	0,068
controle	6,24	6,24	6,90	7,80	9,60	-

Condições de trabalho: 3000 RPM

Concentração inicial = 0,50%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	0,498	1,07	2,32	4,19	9,30	0,024
controle	3,24	3,54	3,96	3,96	4,26	-
8	0,220	0,490	1,09	3,28	12,1	0,034
controle	3,25	3,73	3,95	4,06	4,5	-
14	0,158	0,220	0,518	2,08	14,5	0,035
20	0,146	0,166	0,410	1,50	14,3	0,042
controle	2,79	3,30	3,69	4,08	5,28	-
30	0,112	0,072	0,202	0,882	15,3	0,037
controle	3,24	3,31	3,66	3,95	5,41	-

Condições de trabalho: 3000 RPM

Concentração inicial = 0,250%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	0,669	1,24	1,84	2,07	3,89	0,007
controle	1,86	1,93	1,99	2,05	3,72	-
8	0,288	0,591	1,12	2,10	4,91	0,009
controle	1,49	1,81	1,93	2,01	2,42	-
14	0,116	0,254	0,560	1,45	6,92	0,008
controle	1,73	1,85	1,90	1,97	2,51	-
20	0,122	0,186	0,410	1,11	8,70	0,007
controle	1,33	1,60	1,77	1,97	2,94	-
30	0,070	0,076	0,200	0,658	7,44	0,017
controle	1,62	1,53	1,65	1,86	3,0	-

Condições de trabalho: 3000 RPM

Concentração inicial = 0,125%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	0,606	0,870	1,02	1,10	1,35	0,006
controle	0,864	1,16	1,06	1,16	1,21	-
8	0,364	0,684	0,978	1,22	1,93	0,011
controle	0,852	0,996	1,00	1,01	1,09	-
14	0,158	0,382	0,668	1,15	2,86	0,008
controle	0,750	0,912	0,930	0,960	1,19	-
20	0,081	0,222	0,486	1,01	3,43	0,005
controle	0,738	0,930	0,942	1,13	1,25	-
30	0,070	0,136	0,274	0,650	3,93	0,018
controle	0,87	0,84	0,888	0,930	1,34	-

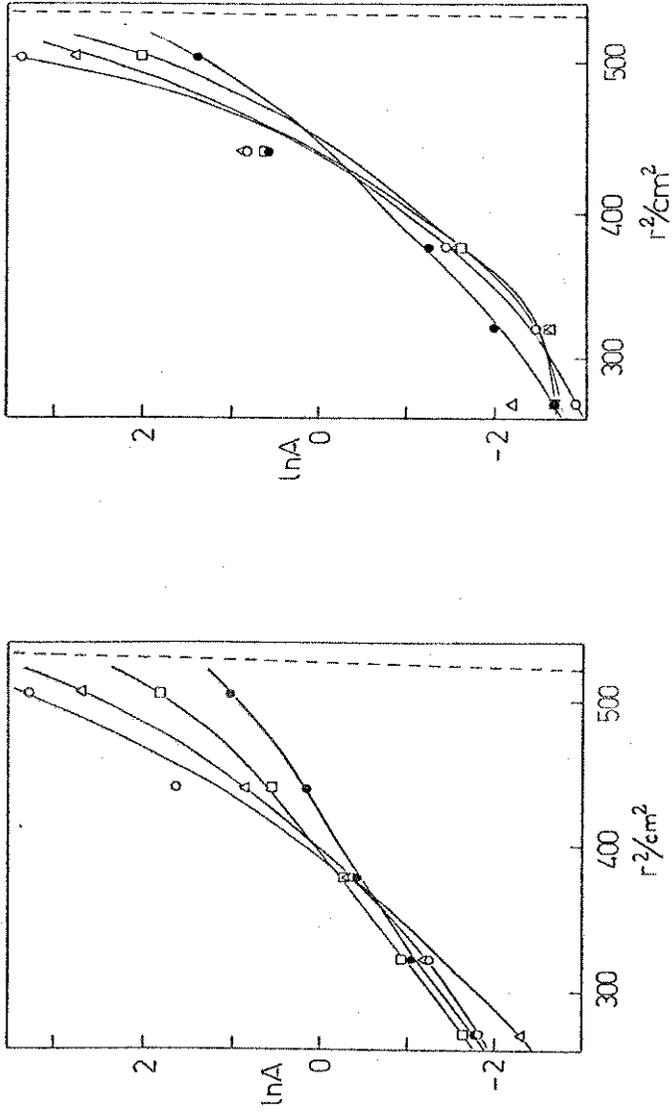
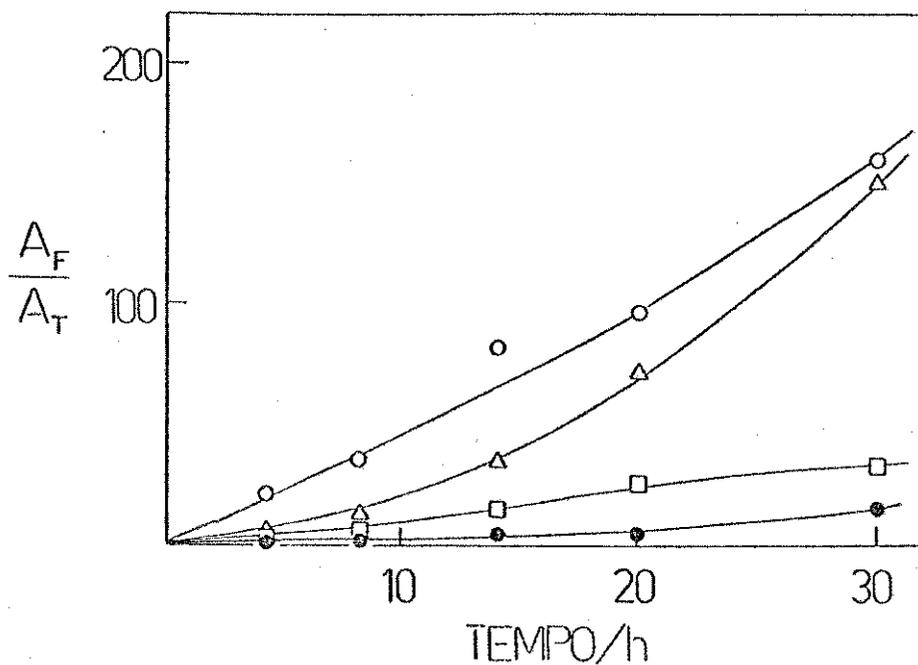
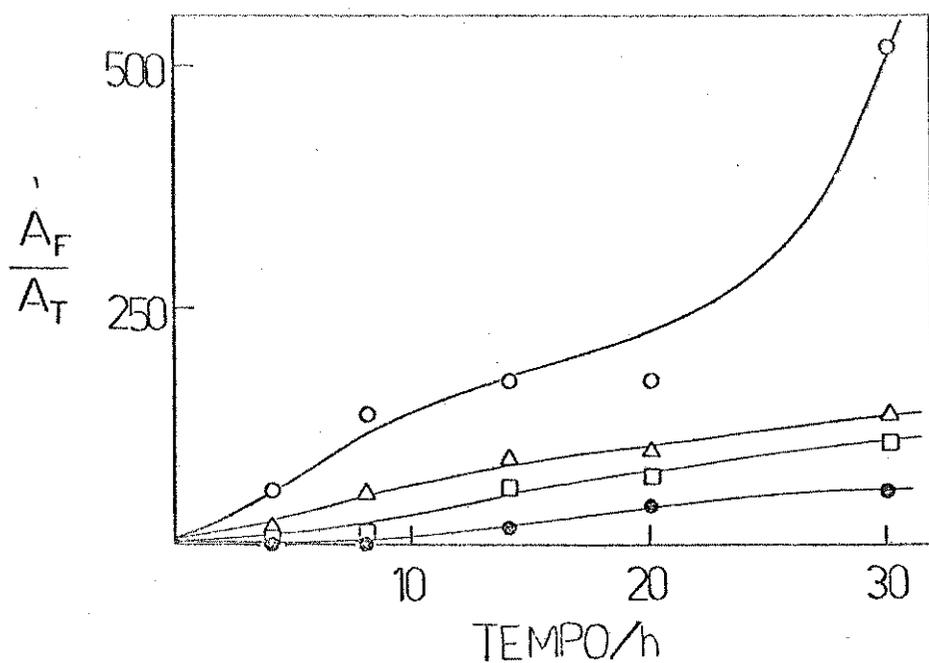


FIGURA 29. Gradientes de concentração ao longo da célula, após 30 h a (a) 2000 rpm e (b) 3000 rpm, partindo de soluções de concentração inicial (o) 1,0%, ( $\Delta$ ) 0,50%, ( $\square$ ) 0,25% e ( $\bullet$ ) 0,125%.



A



B

FIGURA 30. Relações de concentração entre as frações de topo e de fundo da célula em função do tempo de experimento para soluções de concentração inicial (o) 1%, (Δ) 0,5%, (□) 0,25% e (●) 0,125% de dextrana azul, a (a) 2000 rpm e (b) 3000 rpm.

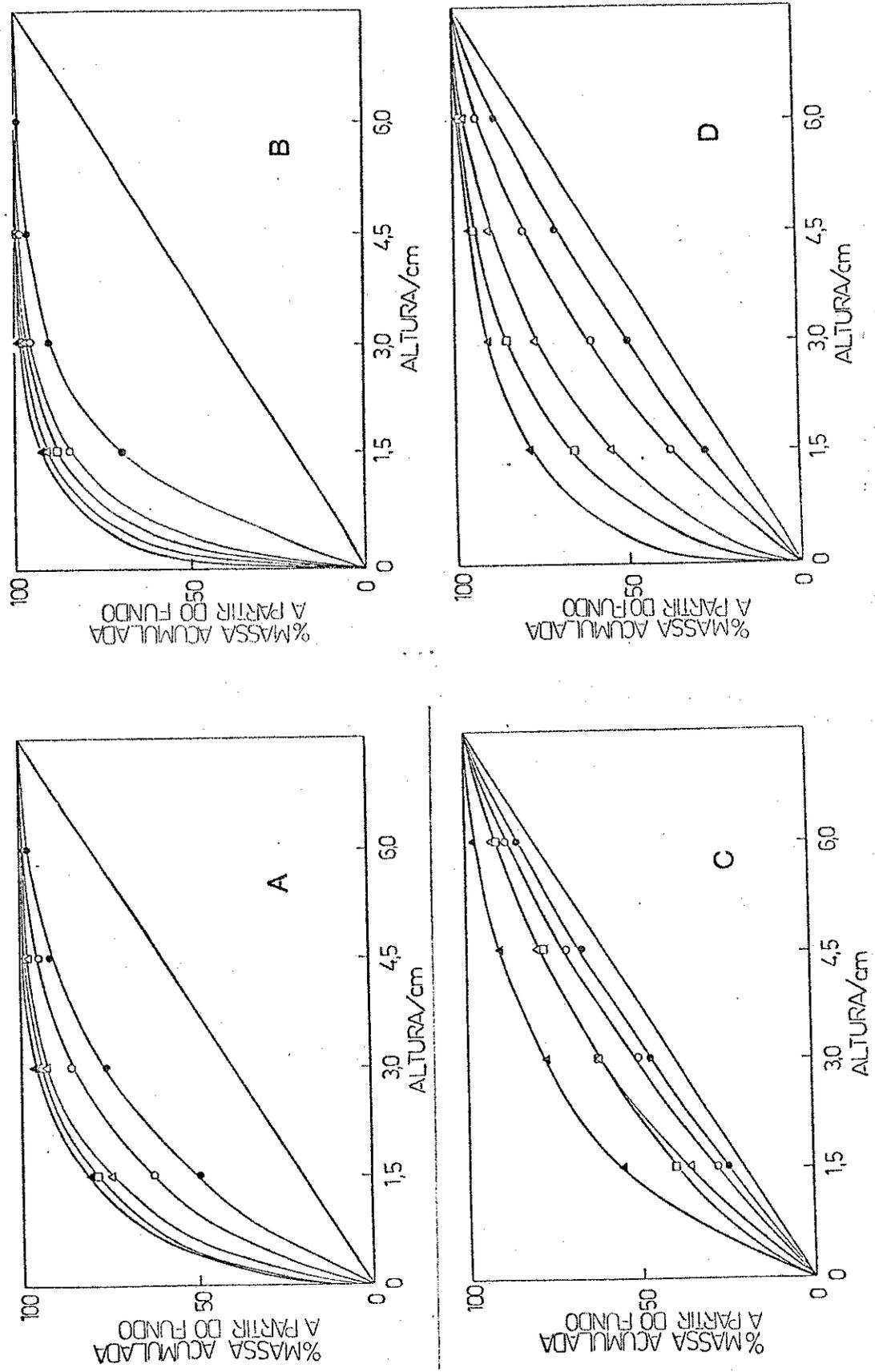


FIGURA 31. Concentração de soluções (a,b) 1,00% e (c,d) 0,125% de dextrana azul por osmossedimentação a (a,c) 2000 rpm e (b,d) 3000 rpm, após (●) 4, (○) 8, (▲) 14, (□) 20 e (△) 30 h.

que permitiria a obtenção de parâmetros tais como peso molecular, coeficiente do virial, etc. Porém, o objetivo principal dos experimentos com dextrana azul foi demonstrar a viabilidade de concentração do material por osmossedimentação. Uma avaliação do tempo necessário para uma concentração efetiva de soluções de diferentes concentrações iniciais é apresentada na Figura 31.

### 2.3.2. Osmossedimentação de Gamaglobulina

Com os experimentos da Tabela 22, verificou-se que as membranas mais indicadas para ensaios com gamaglobulina eram obtidas a partir de soluções 12% de acetato de celulose em mistura solvente contendo 32% de acetona, 27% de água e 41% de ácido acético. Foram obtidas membranas a partir de soluções com esta composição, com tempo de evaporação de solvente 10 min e fio de níquel-cromo número 26 (espessura 0,40 mm).

Realizaram-se ensaios de osmossedimentação de soluções de gamaglobulina 1,0% e 0,25% em NaCl 0,1 M aquoso, a 3000 rpm, a diversos tempos, em centrífuga refrigerada a 4°C. Utilizaram-se células de acrílico do tipo descrito na Figura 1 e as membranas descritas acima. Medidas de absorvância foram efetuadas a 280 nm, em espectrofotômetro Zeiss PMQ-II. O procedimento foi análogo ao já descrito para a dextrana azul, sendo cada experimento acompanhado por um controle. Os resultados são apresentados na Tabela 25 e correspondem a uma média entre três experimentos.

Os gradientes de concentração de gamaglobulina em células de osmossedimentação, centrifugadas a 3000 rpm, durante 103 horas aparecem na Figura 32. A curva teórica referente à so

lução mais concentrada aparece tracejada. A Figura 33 indica, que provavelmente o tempo de 103 horas foi suficiente para o atingimento do equilíbrio de sedimentação da solução mais concentrada, alcançando-se um patamar. Entretanto, a curva obtida não

TABELA 25. Osmossedimentação de gamaglobulina a 3000 rpm, a 4°C.

Concentração inicial = 1,0%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	1,74	3,11	5,54	12,2	31,9	0,068
controle	8,91	10,0	11,0	11,2	12,2	-
8	0,858	1,46	2,74	7,51	39,4	0,034
controle	8,14	9,57	10,9	11,7	13,2	-
14	0,519	0,915	1,65	4,51	37,0	0,069
controle	8,37	10,4	11,2	11,3	12,8	-
20	0,408	0,579	0,951	2,66	32,7	0,033
controle	8,16	9,41	10,3	10,9	11,9	-
30	0,297	0,447	0,729	2,33	40,5	0,040
controle	6,93	8,58	9,57	9,79	11,9	-
51,5	0,296	0,330	0,550	2,00	40,1	0,059
controle	7,28	8,80	9,68	9,92	13,0	-
103	0,234	0,246	0,261	1,00	36,0	0,114

Concentração inicial = 0,50%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
51,5	0,300	0,240	0,354	1,10	17,1	0,059
controle	3,63	4,60	5,23	5,52	6,65	-
103	0,248	0,308	0,279	1,14	21,0	0,069

Concentração inicial = 0,25%

Tempo de centrifugação (h)	Absorbância					Solvente (média)
	Alturas médias (cm)					
	6,75	5,25	3,75	2,25	0,75	
4	1,54	2,11	2,59	3,36	4,93	0,025
controle	2,56	2,80	2,83	2,89	3,42	-
8	1,10	1,73	2,20	3,32	5,29	0,021
controle	2,73	2,70	2,85	2,76	2,82	-
14	0,734	1,13	1,68	3,21	7,26	0,034
controle	2,49	2,78	2,88	2,93	3,13	-
20	0,508	0,730	1,15	2,47	7,20	0,026
controle	2,20	2,34	2,36	2,45	2,59	-
30	0,332	0,510	0,848	1,84	7,54	0,028
51,5	0,233	0,340	0,706	1,04	10,3	0,038
controle	2,24	2,61	2,81	3,12	3,75	-
103	0,126	0,159	0,216	0,540	9,79	0,114

concorda com a calculada, admitindo-se equilíbrio. Este ponto será tratado na Discussão. A Figura 34 apresenta uma avaliação do tempo necessário para uma concentração efetiva das soluções de gamaglobulina.

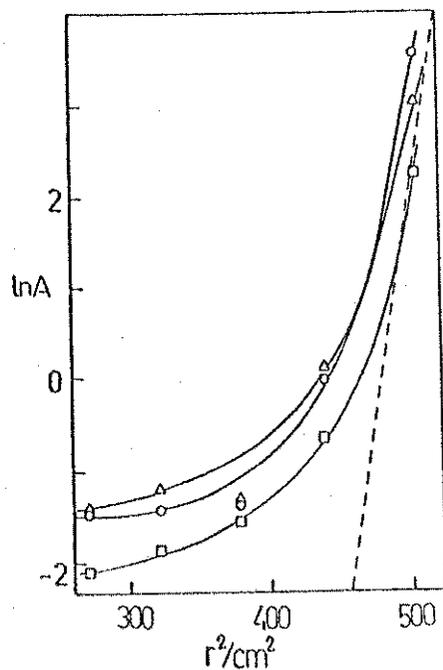


FIGURA 32. Gradiente de concentração de soluções de gamaglobulina de concentração inicial (o) 1,0%, ( $\Delta$ ) 0,50% e ( $\square$ ) 0,25%, em experimentos de osmossedimentação (103 horas a 3000 rpm).

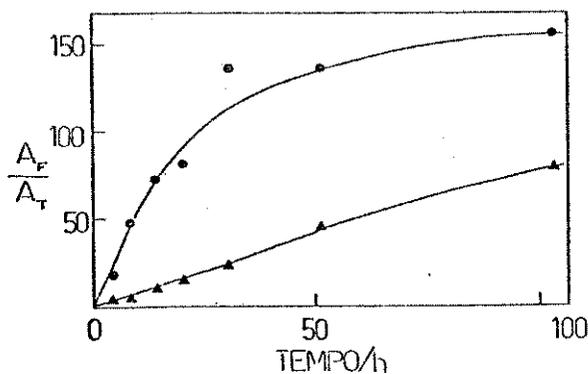


FIGURA 33. Relações de concentração entre as frações de topo e de fundo da célula em função do tempo de experimento, a 3000 rpm, para soluções de concentração inicial (o) 1,0% e ( $\Delta$ ) 0,25%.

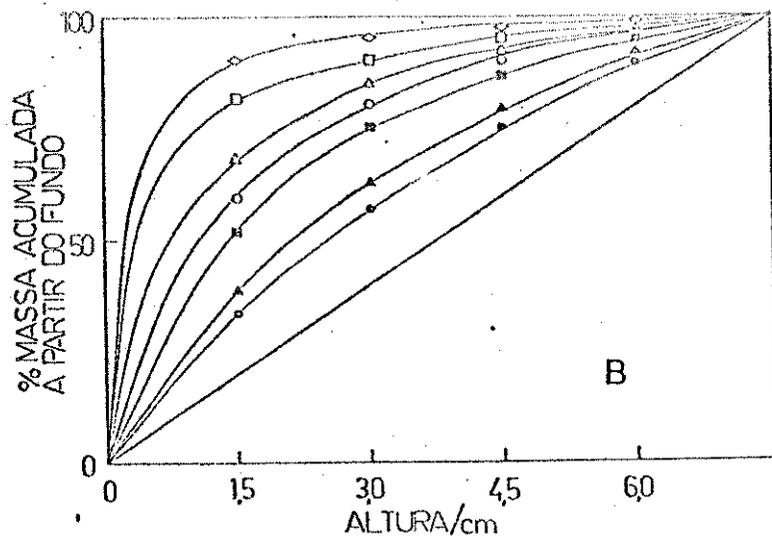
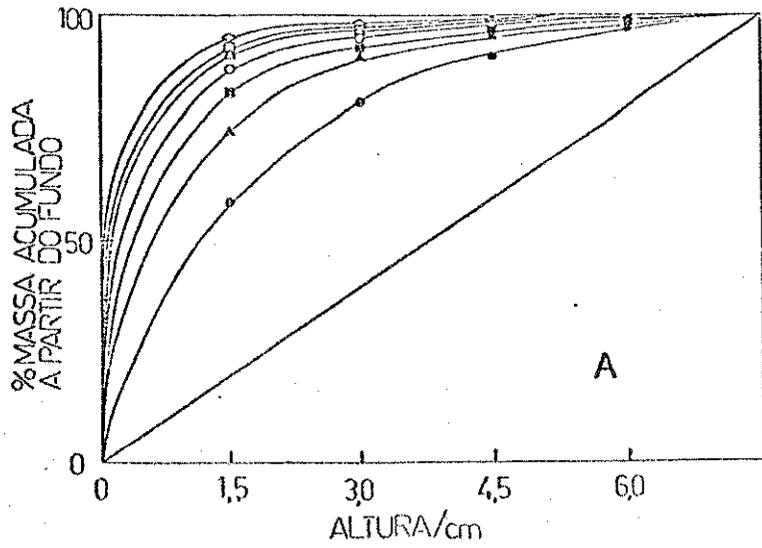


FIGURA 34. Concentração de soluções (a) 1,0% e (b) 0,25% de gamaglobulina por osmossedimentação a 3000 rpm, após (o) 4h, ( $\Delta$ ) 8h, ( $\square$ ) 14h, ( $\diamond$ ) 20h, ( $\times$ ) 30h, ( $\square$ ) 51,5h e ( $\diamond$ ) 103h.

### 3. DISCUSSÃO

Vários mecanismos têm sido sugeridos para explicar a formação de membranas assimétricas. Porém, todos concordam em afirmar que durante a etapa de evaporação, o solvente é perdido da superfície do filme e a concentração do polímero na camada superficial é aumentada. Quando o filme é imerso em água, a água se difunde para o interior, sua concentração excede a de miscibilidade com o polímero e ocorre a gelificação.

Relações entre a composição da solução que dá origem à membrana e a sua porosidade são apresentadas na literatura (17,62-65), levando em consideração as restrições impostas por diagramas ternários polímero-solvente-não solvente. Um diagrama esquematizado é apresentado na Figura 35. Os vértices do triângulo representam os 3 componentes, isto é, polímero, solvente e precipitante, enquanto que qualquer ponto dentro do triângulo representa uma mistura dos 3 componentes. O sistema consiste de 2 regiões: uma região de uma fase onde todos os componentes são miscíveis e uma região de 2 fases onde o sistema se separa em uma fase sólida (rica em polímero) e uma fase líquida (pobre em polímero). Durante a formação da membrana, o sistema passa de uma composição A, que representa a solução de partida, para o ponto C, que representa a composição final da membrana. Na composição C, 2 fases estão em equilíbrio, uma sólida (rica em polímero) que forma a estrutura final da membrana, representada pelo ponto S e uma fase líquida (pobre em polímero) que constitui os poros da membrana preenchidos pelo precipitante, representada pelo ponto L. A posição C na linha S-L determina a porosidade total da membrana. O ponto B é a concentração na qual o po-

límico começa a precipitar. Com o prosseguimento da precipitação, mais solvente é perdido até que no ponto D a viscosidade é suficientemente alta para que o polímero precipitado seja visto como sólido.

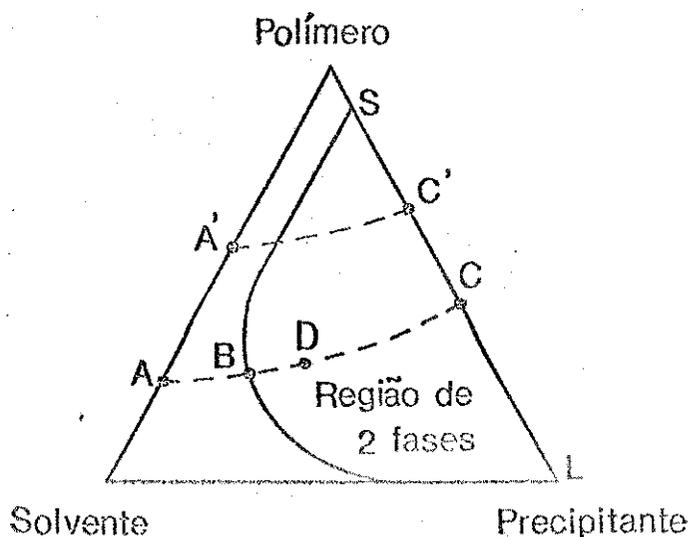


FIGURA 35. Diagrama de fase esquemático do sistema polímero-solvente-água, mostrando o caminho de precipitação durante a formação da membrana (64).

No laboratório, quando a composição de cada solução de preparação da membrana foi variada, foram feitos testes para determinar a quantidade adequada de água a ser adicionada, determinando-se a concentração acima da qual ocorria coagulação do polímero. Muitos aditivos são sugeridos na literatura (65) para controlar a porosidade da membrana. Alguns ensaios foram realizados adicionando, por exemplo, cloreto de magnésio, etanol, etc. à solução de partida, mas não foi verificado nenhum progresso nas características das membranas que justificasse o prosseguimento destes experimentos.

Strathmann e colaboradores (17) atribuem o papel dos aditivos no controle da porosidade à sua capacidade de controlar a velocidade relativa com que a água entra e o solvente deixa a solução da membrana, isto é, à sua influência na determinação do caminho de precipitação no diagrama ternário da Figura 35. Strathmann verificou que membranas obtidas a partir de soluções de acetato de celulose em acetona, com 15% de água, contêm tanta água, que somente uma pequena quantidade precisa difundir antes que a membrana coagule. Assim, também, pouca acetona difunde para fora e uma membrana porosa é obtida. As membranas foram preparadas por nós a partir de soluções contendo mais que 20% de água, o que é suficiente para formar membranas de porosidade alta, sem a necessidade de aditivos.

O diagrama ternário não explica a estrutura assimétrica das membranas. Strathmann e colaboradores (17), também, interpretam a formação da membrana assimétrica, tratando a precipitação do polímero por analogia com a cristalização a partir de soluções supersaturadas. A Figura 36 apresenta uma relação entre nucleação, crescimento dos núcleos e grau de supersaturação.

A intersecção das curvas com a abscissa corresponde ao tamanho crítico do núcleo, acima do qual o núcleo crescerá. Assim, em supersaturações mais altas, o precipitado é mais finamente disperso. No caso da formação de membranas, a superfície da solução em contato direto com a água apresenta um grau de supersaturação extremamente alto. Isto resulta em uma estrutura finamente dispersa que corresponde à superfície filtrante final da membrana. À medida que a precipitação prossegue no interior do filme, sua composição se torna progressivamente mais rica em solvente. O grau de supersaturação é significativamente menor e o

precipitado se forma a partir de núcleos maiores. Assim, o tamanho médio dos poros aumenta de uma face a outra da membrana.

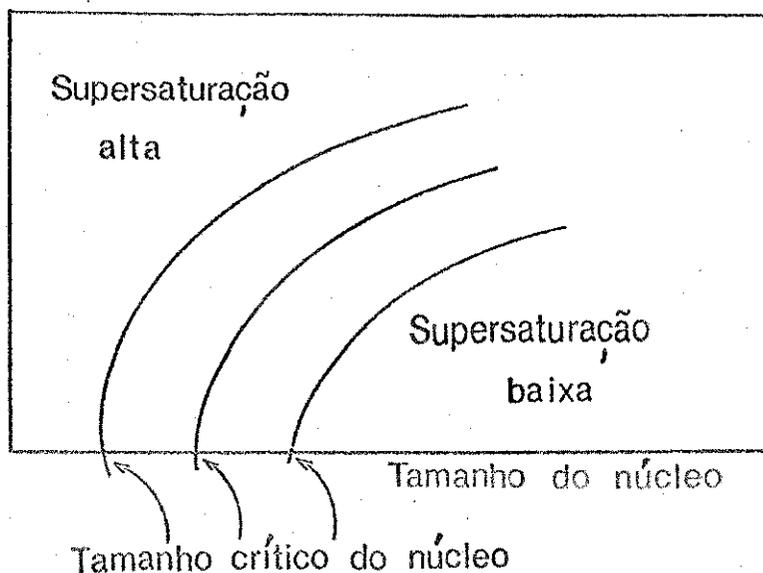


FIGURA 36. Diagrama esquemático mostrando a relação entre velocidade de precipitação, tamanho crítico do núcleo e grau de supersaturação, durante o processo de precipitação (17).

Kesting (15) e Maier e Scheuermann (67) apresentam um modelo que envolve o aparecimento de micelas e gotículas esféricas durante a formação da membrana, considerando a importância do agente intumescedor (água contida na solução do polímero) na formação dos poros. Durante a etapa de evaporação, o solvente é perdido mais rapidamente na interface ar-solução e a concentração de polímero nessa região aumenta. Como o solvente é, geralmente mais volátil que o agente intumescedor, uma grande quantidade do agente permanece, mesmo após grande parte do solvente ter sido perdida. O agente intumescedor, então, se separa da fa

se contínua, como gotículas de uma fase dispersa. As moléculas de polímero se agregam ao redor destas gotículas, pois o solvente é insuficiente para mantê-las na fase contínua. À medida que mais solvente é perdido, as paredes das gotículas se tornam mais espessas (Figura 37.a), se aproximam umas das outras (Figura 37.b), entram em contato (Figura 37.c) e formam um poliedro (Figura 37.d). Quando a membrana é imersa em água, ocorre difusão do solvente para fora e de água para dentro. As paredes do poliedro se rompem dando origem a células abertas (Figura 37.e) responsáveis pela estrutura microporosa da membrana. O modelo de micelas é reforçado pelo trabalho de Koenhen e colaboradores (65) que observaram, em microscópio óptico, a formação de gotículas esféricas que coalescem dando origem à estrutura porosa da membrana.

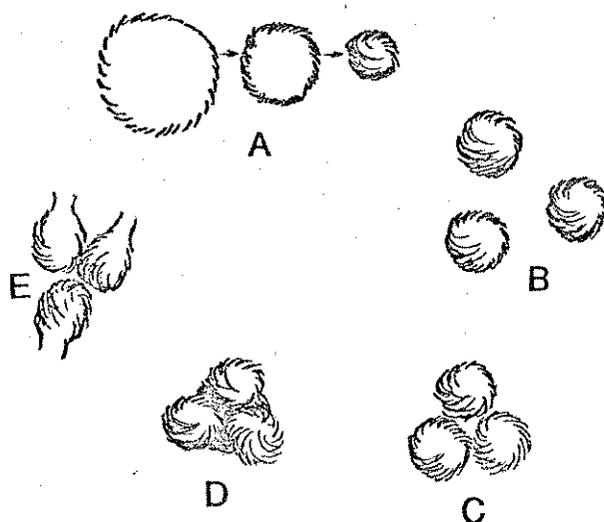


FIGURA 37. Modelo de micelas para o processo de formação de membranas (67).

A Figura 11 mostra o efeito da concentração do acetato de celulose sobre a permeabilidade e a seletividade das membranas. Quando as membranas são preparadas a partir de soluções mais diluídas, o grau de supersaturação na interface solução-água é menor. Levando em consideração a teoria proposta por Strathmann (17), a formação da estrutura destas membranas se inicia a partir de núcleos maiores responsáveis pela obtenção de poros tam-bém maiores. Isto é responsável pela alta permeabilidade mas baixa retenção de solutos apresentada por membranas obtidas a partir de soluções diluídas de acetato de celulose. De maneira inversa, soluções concentradas, com alto grau de supersaturação favorecem a formação de uma estrutura finamente dispersa e a obtenção de membranas mais seletivas.

A Figura 20 mostra a influência do tempo de evaporação do solvente sobre o fluxo de permeante e retenção de soluto. Obser-va-se que a curva de retenção em função do tempo de evaporação apresenta um máximo. Comportamento análogo foi observado por Strathmann (17) e Sourirajan (68-70) na preparação de membranas de acetato de celulose, utilizando acetona como solvente e solu-ção de formamida ou perclorato de magnésio como agente intumes-cedor. Supondo que há evaporação somente do solvente antes da coagulação, a composição da solução de partida passa do ponto A no diagrama ternário (Figura 35) para o ponto A' correspondente a maior concentração do polímero. Quando a solução é precipita-da, uma membrana consideravelmente mais densa, representada pe-lo ponto C' no diagrama, é obtida. Raciocinando em termos de grau de supersaturação, como o solvente é perdido e há concen-tração da solução com o aumento do tempo de evaporação, aumenta o grau de supersaturação e a estrutura da membrana se forma a

partir de um maior número de núcleos de menor tamanho. Explica-se assim o aumento de retenção e a queda de permeabilidade. Esta teoria não explica, porém, a queda na retenção após um certo tempo e o aumento inicial de fluxo observado em um dos casos (Figura 20, solução A). Sourirajan (68-70) adota a teoria de micelas e gotículas descrita acima e propõe que, durante a evaporação, há um crescimento de número e tamanho de gotículas na superfície do filme. Após um certo tempo, predominam o crescimento das gotículas e sua coalescência. Como resultado, o número de gotículas diminui e o tamanho médio aumenta. Assim, inicialmente, o aumento do tempo de evaporação do solvente favorece o aumento da permeabilidade da membrana devido ao aumento do número de gotículas e conseqüente aumento do número de poros. Mas aumentando-se ainda mais o tempo de evaporação, a permeabilidade das membranas obtidas é menor, porque apesar do aumento de tamanho, há coalescência das gotículas e conseqüente diminuição do número de poros. O crescimento das gotículas pode dar origem a poros grandes e ser responsável pela queda na retenção após um certo tempo de evaporação.

A Figura 21 mostra a influência da espessura do fio de níquel-cromo sobre as características das membranas obtidas. Com aumento da espessura, há aumento da permeabilidade e diminuição da retenção de solutos. Pela teoria discutida por Strathmann (17), levando em consideração apenas o grau de supersaturação do polímero durante a precipitação, sem considerar a evaporação do solvente, seria esperado que a espessura da camada filtrante superficial e, conseqüentemente, as propriedades de transporte da membrana fossem mais ou menos independentes da espessura total do filme. Haveria variação somente na espessura da camada su-

porte, que por ser constituída por poros muito maiores não interferiria nas propriedades de transporte e contribuiria apenas para aumentar a resistência mecânica da membrana. Porém, os resultados experimentais demonstram que a espessura do filme influencia na formação da camada filtrante. Além disso, controlando o tempo de evaporação do solvente podem ser reproduzidas permeabilidade e retenção similares àquelas que caracterizam membranas de menor espessura total. Filmes mais espessos contêm maior quantidade de solução abaixo da camada superficial. Conseqüentemente, maior quantidade de solvente deve ser perdida para efetivar a coagulação do polímero. Durante a etapa de evaporação, não só o solvente da superfície é perdido, mas aquele que se encontra no interior do filme caminha em direção à superfície. Assim, após um mesmo tempo de evaporação, filmes mais espessos, isto é, com maior quantidade de solução abaixo da superfície, aparentemente, favorecem uma camada superficial com maior teor de solvente, que em contato com a água precipita a partir de núcleos maiores e forma uma estrutura mais porosa.

As Figuras 10, 17, 18 e 19 ilustram a influência da composição da mistura solvente sobre as propriedades de permeabilidade e retenção das membranas. Observa-se um aumento significativo da retenção de solutos acompanhado por uma diminuição do fluxo de permeante com o aumento da percentagem de acetona na mistura solvente do polímero que dá origem à membrana. A acetona sendo mais volátil que o ácido acético favorece maior concentração do polímero na camada superficial, após o mesmo tempo de evaporação, e conseqüentemente se forma uma camada filtrante mais densa. Porém, a interpretação dos resultados envolve parâmetros de maior complexidade.

Frommer e colaboradores (71-73) estudaram a preparação de membranas de acetato de celulose dissolvendo o polímero em vários solventes e sugeriram o mecanismo descrito a seguir, considerando que a densidade de cada membrana é determinada pela concentração do filme no ponto de precipitação. A concentração neste ponto é determinada pela concentração de água requerida para precipitar o acetato de celulose e pela direção e magnitude do fluxo de líquidos para fora e para dentro do filme. Se, durante a imersão em água, o fluxo maior for para fora do filme, a solução é concentrada antes da precipitação e uma membrana densa é obtida. Por outro lado, se o fluxo total for zero ou se for maior para o interior do filme a membrana obtida é mais porosa. Experimentos que reproduziram esta etapa da preparação mostraram que quando a acetona foi utilizada como solvente, o fluxo maior foi do filme para o meio de coagulação; quando ácido acético foi usado, nenhum fluxo preferencial em uma direção foi detectado. Strathmann e colaboradores (74,75) fazem uma discussão análoga baseada nos valores do parâmetro de solubilidade dos solventes envolvidos. O parâmetro de solubilidade  $\delta$  dá uma estimativa da magnitude da entalpia de mistura (76). Em geral, a água ( $\delta = 47,9 \times 10^3 \text{ J}^{1/2} \cdot \text{m}^{3/2}$ ) (50) penetra mais rapidamente na solução, quanto mais próximo do seu for o parâmetro de solubilidade do solvente. Quando a solução do polímero entra em contato com a água (não solvente), forma-se imediatamente uma película superficial. Quando o valor do parâmetro de solubilidade do solvente é baixo (ex: acetona  $\delta = 20,3 \times 10^3 \text{ J}^{1/2} \cdot \text{m}^{3/2}$ ) (50), a película e o solvente residual constituem uma barreira efetiva contra a água, mas não contra o solvente. O solvente sendo miscível com água deixa rapidamente o filme favorecendo uma membrana

de estrutura densa. Quando o valor de  $\delta$  é maior (ex: ácido acético  $\delta = 20,7 \times 10^3 \text{ J}^{1/2} \text{ m}^{3/2}$ ) (50) o teor de água na película aumenta, tornando-a mais permeável à água e favorecendo uma membrana mais porosa. Mas a interação polímero-solvente também deve ser considerada e pode ser expressa em função da disparidade entre os parâmetros de solubilidade do polímero e do solvente. Quanto menor esta diferença, maior é a compatibilidade entre o solvente e o polímero e mais tempo é requerido para remover o solvente da estrutura do polímero. Quando a disparidade é maior, o solvente deixa mais rapidamente o polímero e uma membrana mais densa é formada. Os valores do parâmetro de solubilidade para acetona, ácido acético e acetato de celulose (50) são respectivamente  $20,3 \times 10^3$ ,  $20,7 \times 10^3$  e  $27,8 \times 10^3 \text{ J}^{1/2} \cdot \text{m}^{3/2}$ .

O ácido acético é portanto mais compatível com o acetato de celulose e favorece, de acordo com os fatos experimentais, a formação de uma membrana mais porosa e mais permeável.

Esta tese descreve observações feitas em microscópio óptico e em microscópio eletrônico, que revelam uma acentuada variação da estrutura da membrana com a composição da mistura solvente do acetato de celulose. Membranas obtidas a partir de soluções com maior teor de ácido acético apresentam uma estrutura mais porosa com presença de cavidades em forma de dedo, que se sobrepõem. Soluções com maior teor de acetona dão origem a estruturas esponjosas, mais densas, onde as cavidades se tornam mais esparsas, adquirem a forma de cones e desaparecem em membranas obtidas a partir de soluções com teor de acetona muito alto. Este tipo de cavidades já foi descrito na literatura (64,65,75,77-81) e algumas teorias foram sugeridas. As várias teorias concordam em afirmar que as cavidades são formadas durante a etapa de pre

cipitação com a entrada irregular do não solvente. Strathmann (64) sugere que imediatamente após a imersão do filme em água forma-se uma camada superficial sólida do polímero. Uma penetração rápida do não solvente provoca tensão na superfície sólida já formada forçando-a a romper em alguns pontos. Estes pontos de fratura favorecem a propagação das cavidades. A solução entre as cavidades é protegida de uma exposição direta ao não solvente pela camada de polímero precipitado e precipita mais lentamente formando uma estrutura esponjosa. Observa-se também a formação de uma pele na superfície em contato com o vidro. Esta pele pode ser causada pela adesão da solução à placa de vidro, prevenindo o afastamento do polímero para os lados de maneira a continuar a formação da cavidade. Matz (81) explica a formação das cavidades com base na variação da tensão superficial durante a etapa de coagulação. A tensão superficial da fase rica em polímero aumenta através da perda de solvente, enquanto que a tensão superficial da fase aquosa diminui. No ponto onde estas tensões superficiais são iguais, a interface é muito sensível à distorção e a formação das cavidades se inicia. Uragami (77-80) adota o modelo de gotículas que coalescem durante a etapa de evaporação e propõe que a agregação heterogênea do polímero na superfície seria suficiente para iniciar a formação das cavidades. Koenhen (65) rejeita os modelos de Strathmann e Matz e sustenta a explicação proposta por Gröbe e colaboradores (82), segundo a qual a transferência de massa é favorecida em locais de fase pobre em polímero. O número destes locais é dado por uma distribuição estatística e a frente de separação de fase se move mais rapidamente aí, por causa da troca mais rápida entre solvente e não solvente. Embora os diversos autores di-

virjam nos fatores que favorecem o início da formação das cavidades, geralmente concordam em afirmar que uma tendência à rápida penetração do não solvente favorece a sua propagação. Observa-se que alguns solventes apresentam forte tendência à formação de cavidades independentemente do polímero usado (64,75). Há maior chance de se obter cavidades quando o não solvente e o solvente mostram uma alta afinidade (entalpia de mistura menos positiva) (65,75). A entalpia molar de mistura a diluição infinita do ácido acético e água a 7°C é 1,67 kJ/mol e a 23°C 1,00 kJ/mol; da acetona e água a 10°C é 10,5 kJ/mol (83). Assim, o ácido acético mostra mais alta afinidade com a água e apresenta maior tendência à formação de cavidades. A afirmação concorda com nossos resultados experimentais.

4881/10  
A Tabela 6 e as Figuras 15 e 16, ilustram o efeito da compactação das membranas sob pressão. A estrutura porosa, quando submetida a uma determinada pressão, sofre compactação. A membrana torna-se mais densa e, conseqüentemente, ocorre uma queda no fluxo de água com o tempo até que a compactação atinja um máximo. A Tabela 6 compara o efeito de compactação em duas membranas, sendo que apenas uma sofreu um tratamento térmico após a coagulação. A membrana que não sofreu este tratamento apresenta o efeito de compactação mais acentuado. A introdução de energia térmica tende a trazer os segmentos de polímero mais próximos entre si, reduzindo o tamanho dos poros na superfície da membrana (68,69). É sugerido, também, que o aumento de temperatura provoca um rearranjo nas pontes de hidrogênio intra e intermoleculares nas cadeias de acetato de celulose e como conseqüência, um empacotamento mais denso das moléculas do polímero (84). Porém, conforme a Tabela 15 o tratamento não foi suficientemen-

te efetivo para aumentar a seletividade das membranas e justificar a introdução de mais esta etapa em sua preparação. A Figura 15 compara o efeito da compactação de membranas obtidas a partir de soluções contendo diferentes proporções de acetona. Membranas obtidas a partir de soluções com maior teor de ácido acético são mais suscetíveis à compactação. Isto se deve a sua estrutura mais porosa com cavidades que tornam a camada suporte menos resistente à compactação. A Figura 16 apresenta o efeito de histerese observado quando se submete a membrana a diferentes pressões. Quando a pressão é aumentada, o fluxo aumenta, mas há também um aumento na compactação da membrana, fazendo com que a relação fluxo-pressão não seja linear. Quando se parte de uma pressão máxima que é diminuída já não se observa a mesma variação devida à compactação.

A Tabela 21 apresenta os resultados da impregnação de membranas com hidróxido de ferro. Observa-se que a impregnação é mais eficiente em membranas obtidas a partir de soluções do polímero em ácido acético. Esta é a membrana mais porosa e provavelmente oferece melhores condições para a impregnação. Kurokawa e colaboradores (29) impregnaram membranas de acetato de celulose colocando-as em células que permitissem o contato com soluções 0,1 N de NaOH e 0,1 N de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2$ . O contato direto com a solução de NaOH, porém, provocava a hidrólise parcial do acetato de celulose. Membranas com permeabilidade da ordem de  $0,005 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$  a 50 atm e retenção de 37% de solução de NaCl foram obtidas a partir da impregnação de membranas que apresentavam permeabilidade da ordem de  $0,006 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$  e retenção de 6% de NaCl nas mesmas condições. Com impregnação realizada por nós segundo o procedimento já descrito, as membranas que apresentavam

anteriormente permeabilidade de  $0,26 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$  e retenção de 10% de solução de  $\beta$ -lactoglobulina ( $M = 35500$ ), a 2 atm, passaram a ter permeabilidade da ordem de  $0,041 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$  e retenção de 62% de  $\beta$ -lactoglobulina nas mesmas condições. A melhora na capacidade de retenção de solutos pela membrana foi mais acentuada no caso de proteínas globulares ( $\beta$ -lactoglobulina e ovoalbumina) do que para dextrana de peso molecular semelhante. A menor retenção de dextrana de mesmo peso molecular que as proteínas por membranas mesmo não impregnadas pode ser atribuída a diferenças de conformação (85). As moléculas lineares de dextrana e as proteínas globulares têm diferentes condições de transporte através das membranas. Mas a melhora de retenção, devido à impregnação, mais acentuada no caso das proteínas sugere um efeito eletrostático. Com a impregnação, a membrana adquire maior carga superficial devido ao precipitado. A retenção das proteínas (carregadas) deve ocorrer em parte pelo efeito de carga da membrana. No caso da dextrana (sem carga) o aumento de retenção com a impregnação ocorre somente devido à obstrução parcial dos poros com o precipitado. Não foram realizados estudos que permitissem a identificação exata do precipitado. Kurokawa e colaboradores (29) identificaram o precipitado impregnado em suas membranas como sendo uma mistura de material amorfo,  $\text{FeOOH}$  (goethita) e  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (hematita).

#### OSMOSEDIMENTAÇÃO

O aperfeiçoamento das membranas de acetato de celulose realizado no correr deste trabalho tornou viável a sua aplicação na osmosedimentação de proteínas de peso molecular inferior ao da gamaglobulina. A Figura 28 apresenta curvas de gradiente de con

centração para gamaglobulina ( $M = 165000$ ), albumina bovina ( $M = 66000$ ) e ovoalbumina ( $M = 42700$ ), após o mesmo tempo de experimento, utilizando-se membranas de capacidades de retenção diversas. A escolha da membrana mais indicada a cada caso foi dirigida por dois efeitos principais: membranas de retenção baixa produzem menores gradientes de concentração; membranas com boa retenção mas fluxo muito baixo são responsáveis por um atingimento de equilíbrio lento.

Galembeck e colaboradores (44) compararam a sedimentação tradicional com a osmossedimentação, considerando a velocidade de atingimento do equilíbrio como sendo governada por

$$\frac{dG}{dt} = \sum_i \sum_{\alpha A} \Delta\mu_{i,\alpha A} \phi_{i,\alpha A}$$

onde  $G$  é a energia livre do sistema,  $i$  representa cada componente,  $\alpha A$  é cada fronteira de separação de fase e  $\Delta\mu_{i,\alpha A}$  é a diferença entre os potenciais químicos do componente  $i$  nas fases  $\alpha$  e  $A$ ;  $\phi_{i,\alpha A}$  é a corrente de massa de  $i$  através da fronteira  $\alpha A$ . Como cada produto é necessariamente negativo,  $G$  tende a diminuir mais rapidamente se houver maior número de termos. O acoplamento osmótico fornece mais uma fronteira para transporte de massa, a membrana semipermeável. O processo é esquematizado na Figura 29. A eficiência da introdução de mais esta fronteira na aceleração do atingimento do equilíbrio é essencialmente função da permeabilidade da membrana. Assim, as membranas obtidas a partir de soluções com maior teor de acetona, apesar de apresentarem boas características de retenção, em alguns casos são pouco eficientes, em termos cinéticos.

A seletividade é, também, fator importante na escolha da mem

brana adequada. A diferença de potencial químico através da membrana é função da diferença de concentração entre as soluções contidas nos 2 compartimentos por ela separados. Quando um dos compartimentos é preenchido apenas pelo solvente, a diferença de potencial é máxima. Mas quando a membrana permite a passagem de soluto, o mesmo compartimento passa a conter uma solução diluída, ao invés de apenas solvente. A diferença entre os potenciais químicos das soluções diminui e a contribuição do acoplamento osmótico para o atingimento do equilíbrio é menor.

Foram realizados experimentos com soluções de azul de dextrana de diversas concentrações. Verificou-se, porém, por comparação com a curva teórica, calculada, considerando sistema ideal com soluto monodisperso, na Figura 29, que em nenhum dos casos foi atingido o equilíbrio de sedimentação.

A equação barométrica prevê que o gradiente de concentração no equilíbrio, isto é, o valor de  $dlnc/dr^2$  deve ser independente da concentração da solução homogênea. Mas verificou-se que as soluções mais diluídas permaneciam mais distantes do equilíbrio, após o mesmo intervalo de tempo, que as soluções concentradas. O fato pode ser verificado na Figura 30, bem como nas inclinações das curvas da Figura 29.

Elmgren (86-88) discute a influência da concentração na velocidade de sedimentação, em sistemas sem acoplamento osmótico, como sendo função essencialmente da mobilidade do solvente, isto é, da capacidade do solvente de passar pelas macromoléculas. Este efeito torna-se, porém, desprezível, em termos cinéticos, quando há acoplamento osmótico. Na expressão citada para  $dG/dt$ , quanto maior a diferença de potencial químico entre os 2 lados da membrana, mais rapidamente o equilíbrio seria atingido. Es-

ta diferença de potencial químico é função direta da concentração da solução macromolecular, considerando-se que no outro compartimento temos apenas solvente. Assim, soluções mais concentradas tendem a alcançar o equilíbrio de sedimentação mais rapidamente.

O não atingimento do equilíbrio não impediu a comprovação da eficiência do método na concentração das soluções de dextrana azul. Verifica-se na Figura 31 que a eficiência do método é maior para soluções mais concentradas devido ao efeito cinético já comentado. Por exemplo, recolhendo-se, após 8 horas de experimento a 3000 RPM, a quinta parte inferior de uma solução de concentração inicial 1% recuperou-se 85% do material, enquanto que, para uma solução de concentração inicial 0,125% nas mesmas condições recolheu-se apenas 37% do material. O sucesso da osmosedimentação em concentrar soluções de concentração inicial já acima de um determinado valor é importante, considerando-se que o uso da ultrafiltração, com a mesma finalidade implicaria a ocorrência de sérios problemas devidos ao acúmulo de soluto sobre a membrana (polarização por concentração).

Foram realizados experimentos análogos com soluções de gamaglobulina. As observações verificadas para dextrana azul, com relação a efeito de concentração se repetiram com a gamaglobulina. Os experimentos comprovaram, também, a eficiência da osmosedimentação na concentração da proteína, conforme a Figura 34. Por exemplo, em experimento de 8 horas a 3000 rpm, tomando-se a quinta parte inferior da célula, recolheu-se 76% do soluto de uma solução de concentração inicial 1%, em concentração igual a 4 vezes a inicial.

Os experimentos com gamaglobulina foram acompanhados durante

um período de tempo mais longo (até 103 horas). Na Figura 33, verifica-se praticamente um patamar na curva de  $A(\text{fundo})/A(\text{topo})$  em função do tempo, o que indicaria uma proximidade do equilíbrio de sedimentação. A curva do gradiente teórico de concentração calculada e apresentada na Figura 32, porém, se aproxima somente dos valores experimentais correspondentes ao fundo da célula.

Até aqui, considerou-se, no tratamento teórico da osmossedimentação, que o compartimento destinado ao solvente continha apenas solvente puro. Porém, as membranas não são completamente seletivas. No decorrer dos experimentos, há passagem de soluto para o compartimento do solvente. Tem-se, então, uma solução diluída ao invés do solvente puro. À medida que o gradiente de concentração vai caminhando em direção ao equilíbrio, há concentração de material no fundo da célula e a diferença de potencial entre os 2 lados da membrana, no topo da célula, vai diminuindo. Assim, com o decorrer do tempo, a solução no topo da célula tenderia a caminhar mais lentamente em direção às condições de equilíbrio que a solução do fundo. No compartimento destinado ao solvente, contendo agora uma solução diluída, ocorre também um gradiente de sedimentação, mas que caminha mais lentamente em direção ao equilíbrio. A equação barométrica prevê, para experimentos a rotações mais altas, o posicionamento de uma solução muito diluída no topo da célula. Seria, então, alcançado um instante crítico, quando a concentração da solução no topo da célula se aproximaria da concentração da solução diluída do outro compartimento. A diferença de potencial químico seria minimizada e a contribuição do acoplamento osmótico cessaria na parte superior da célula. Este fato ocorrendo antes do atingimento do

equilíbrio faria com que a solução contida na parte superior da célula caminhasse de maneira extremamente lenta em direção ao equilíbrio, impulsionada apenas pelo campo centrífugo.

Além disso, não se pode desprezar a possível contribuição de impurezas e contaminantes de peso molecular baixo, que tenderiam a manter-se distribuídos por toda a célula, até seu topo. Isto é tanto mais importante devido ao fato de a concentração nos compartimentos superiores da célula ser muito reduzida, se comparada à do fundo. Por exemplo, na Figura 32 observa-se uma variação de concentração, entre topo e fundo, de 150 vezes para concentração inicial 1,0%.

#### 4. CONCLUSÃO

A Tabela 26 apresenta valores de permeabilidade a água de algumas membranas comerciais, sob pressão de 100 psi (6,8 atm). Estão relacionadas as membranas disponíveis de maior permeabilidade, capazes de reter solutos dentro da mesma faixa de peso molecular que as nossas. As membranas de acetato de celulose desenvolvidas neste trabalho apresentaram permeabilidade a água de 0,4 a 1,6  $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ , sob pressão de 2 atm (29 psi), dependendo da percentagem de acetona na mistura solvente do acetato de celulose, que variou de 50 a 0%. Valores de retenção e de fluxo de permeante para soluções de macromoléculas de diferentes pesos moleculares encontram-se na Tabela 16. Fazendo-se uma aproximação, considerando o aumento do fluxo de água através da membrana linear com a pressão, pode-se prever uma permeabilidade variando entre 1 e 5  $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$  para nossas membranas a 100 psi. Estes valores se equiparam ou, na maioria das vezes, superam os valores de permeabilidade das membranas comerciais relacionadas na Tabela 26. Quanto à retenção, os valores da Tabela 14 sugerem um aumento de seletividade de nossas membranas com o aumento da pressão. Assim membranas com retenção entre 76 a 55% de gamaglobulina, sob pressão de 2 atm (29 psi), devem apresentar melhor desempenho a pressões mais altas. As membranas comerciais de maior permeabilidade não são de acetato de celulose. Kutowy e Sourirajan (68) obtiveram membranas de acetato de celulose para ultrafiltração, usando acetona como solvente e solução aquosa de perclorato de magnésio como agente intumescedor. As membranas apresentaram, sob pressão de 100 psi, permeabilidade a água entre 0,3 e 0,6  $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$  e retenção de proteínas na mesma faixa de peso molecular que as nossas membranas.

TABELA 26. Características de membranas comerciais para ultrafiltração.

Membrana	Composição química	Permeabilidade a água a 100 psi (ml.min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Retenção
Millipore VFWP	ésteres de celulose	0,3 (16)	pepsina 100% (M = 35000)
Diaflo UM 10 (Amicon)	complexo de polieletrólitos	0,5 (16)	dextrana 100% (M = 10000)
		0,3 (34)	
Diaflo XM-50 (Amicon)	olefina substituída	1,0 (16)	albumina 100% (M = 69000)
		0,7 (34)	
Diaflo XM-100 (Amicon)	olefina substituída	3,0 (16)	gamaglobulina (16) 100% (M = 160000)
		0,9 (34)	7S globulina (34) 80-100% (M = 100000)
Diaflo PM-10 (Amicon)	polímero aromático	3,0 (16)	pepsina (16) 100% (M = 35000)
		0,5 (34)	citocromo-C (34) 80-100% (M = 10000)
Diaflo PM 30 (Amicon)	polímero aromático	8,0 (16)	albumina (16) 100% (M = 69000)
			dextrana 110 (16) 60% (M = 110000)
		0,7 (34)	ovoalbumina (34) 80-100% (M = 30000)
HFA-200 (Abcor)	celulósica	0,4 (34)	dextrana (34) 80-100% (M = 20000)
HFA-300 (Abcor)	celulósica	1,7 (16)	citocromo C (16) 20% (M = 13500)
		1,4 (34)	albumina (34) 80-100% (M = 70000)

Nosso trabalho permitiu, portanto, a obtenção de membranas de permeabilidade superior a das comerciais disponíveis para a mesma faixa de peso molecular. Deve ser levado em consideração, também, o alto custo das membranas comerciais e a dificuldade na sua aquisição. Por exemplo, o catálogo da Thomas (89) traz o preço de membranas assimétricas para ultrafiltração distribuídas pela Nuclepore. Uma embalagem com 25 membranas de 90 mm de diâmetro (254 cm<sup>2</sup> de área), com corte de peso molecular 50000 ou

100000, custa 220 dólares. Em laboratório, utilizamos 8 g de acetato de celulose e 50 ml de ácido acético glacial (ou uma mistura de ácido acético e acetona) para obter, em média, 5 membranas de 30 por 15 cm ( $450 \text{ cm}^2$  de área). Utilizando os preços de reagente fornecidos pela Aldrich (90) avaliamos o gasto com reagente em cada membrana como sendo da ordem de 0,2 dólares.

A eficiência das membranas desenvolvidas em nosso laboratório em ensaios de ultrafiltração foi suficiente para que se estabelecessem dois projetos de pesquisa conjuntos (com o Núcleo de Tecnologia - NUTEC, do Ceará, e o grupo de Biotecnologia da Escola de Engenharia Mauá) visando a utilização destas membranas na recuperação de material proteico de efluentes industriais por ultrafiltração e em reator contínuo para sacarificação enzimática de celulose e amido.

A variação da mistura solvente do acetato de celulose forneceu características de permeabilidade e retenção de solutos às membranas, que possibilitaram o seu bom desempenho em osmossedimentação de gamaglobulina e algumas proteínas de peso molecular menor. Os ensaios preliminares foram satisfatórios e estão previstos estudos mais amplos com o objetivo de concentrar e fracionar proteínas por osmossedimentação, utilizando as membranas desenvolvidas neste trabalho. Serão utilizados métodos, tais como a sedimentação em gradiente de densidade, cuja aplicação, anteriormente, só era possível com o acesso a uma ultracentrífuga.

## 5. BIBLIOGRAFIA

- (1) ENCYCLOPEDIA of Polimer Science and Technology. New York. Interscience Publishers, 1976. V. 3 e 8, P. 325-354, 621-638.
- (2) LONSDALE, Harold K. The Growth of Membrane Technology. Journal of Membrane Science. 10: 81-181, 1982.
- (3) STANNETT, V.T. et alii. Recent Advances in Membrane Science and Technology. Advances in Polymer Science. 32: 69-121, 1979.
- (4) PORTER, M.C.. Selecting the Right Membrane. Chemical Engineering Progress. 71 (12): 55-61, 1975.
- (5) PUSCH, Wolfgang & WALCH, Axel. Synthetic Membranes - Preparation, Structure, and Application. Angewandte Chemie. 21 (9): 660-685, 1982.
- (6) NUCLEPORE LAB 20 Catalog.
- (7) REID, C.E. & SPENCER, H.G.. Ultrafiltration of Salt Solutions by Ion-Excluding and Ion-Selective Membranes. Journal of Applied Polymer Science. 4 (12): 354-361, 1960.
- (8) REID, C.E. & BRETON, E.J.. Water and Ion Flow across Cellulosic Membranes. Journal of Applied Polymer Science. 1: 133-143, 1959.
- (9) SALT Water Process Uses Ultrafiltration. Chemical and Engineering News. April 11, 1960, p. 64.
- (10) LOEB, Sidney & SOURIRAJAN, Srinivasa. Sea Water Demineralization by Means of an Osmotic Membrane. Advances in Chemistry Series. 38: 117-132, 1962.
- (11) GREGOR, Harry P. & GREGOR, Charles D.. Synthetic-Membrane Technology. Scientific American. 239 (1): 88-101, 1978.
- (12) OROFINO, T.A.. Technology of Hollow Fiber Reverse Osmosis Systems. In: SOURIRAJAN, Srinivasa. Reverse Osmosis and Synthetic Membranes: Theory-Technology-Engineering. Ottawa, National Research Council Canada, 1977. cap. 15, p. 313-341.

- (13) LOPES, José Roberto Cunha. Diretor da SANASA - Campinas. Comunicação pessoal.
- (14) MICHAELS, Alan S.. Synthetic Polymeric Membranes: Practical Applications - Past, Present and Future. Pure and Applied Chemistry. 46: 193-204, 1976.
- (15) KESTING, Robert E.. Asymmetric Cellulose Acetate Membranes. In: SOURIRAJAN, Srinivasa. Reverse Osmosis and Synthetic Membranes: Theory-Technology-Engineering. Ottawa, National Research Council Canada, 1977. cap. 5, p. 89-109.
- (16) MICHAELS, A.S.. New Separation Technique for the CPI. Chemical Engineering Progress. 64 (12): 31-43, 1968.
- (17) STRATHMANN, H. et alii. A Rationale for the Preparation of Loeb-Sourirajan-Type Cellulose Acetate Membranes. Journal of Applied Polymer Science. 15: 811-828, 1971.
- (18) TRAUBE, M.. Archiv für Anatomie und Physiologie. 1867, p. 86. APUD: WEISER, Harry B.. Adsorption and Permeability of Membranes. I. Copper Ferrocyanide as a Semipermeable Membrane. Journal of Physical Chemistry. 34: 335, 1930.
- (19) BÖESEKEN & MEYER. Rec. Trav. Chim.. 48: 504, 1929. APUD: FERRY, John Douglass. Ultrafilter Membranes and Ultrafiltration. Chemical Reviews. 18: 373-455, 1936.
- (20) BRUKNER. Z. Ver. Deut. Zuckerind. 76: 3, 1926. APUD: FERRY, John Douglass. Ultrafiltration Membranes and Ultrafiltration. Chemical Reviews. 18: 373-455, 1936.
- (21) WEISER, Harry B.. Adsorption and Permeability of Membranes. I. Copper Ferrocyanide as a Semipermeable Membrane. Journal of Physical Chemistry. 34: 335, 1930.
- (22) HIRSCH-AYALON, P.. Impregnated Membranes with Specific Permeabilities for Different Ions. Journal of Polymer Science. 23: 697-704, 1957.
- (23) MALIK, Wahid U. & ALI, S. Anwar. Studies on Tungstate Gels. Kolloid Zeitschrift. 175: 139, 1961.
- (24) MALIK, Wahid U. & SIDDIQI, Fasih A.. Studies in the Membrane Permeability of Chromic Ferro and Ferrocyanides. Journal of Colloid Science. 18: 161-173, 1963.

- (25) LEE JR., Robert E. & MEEKS, Frank R.. Interaction of Various Ions with a Lead Chromate Ionic Membrane. Journal of Colloid Interface Science. 35 (4): 584-592, 1971.
- (26) LAKSHMINARAYANAIHAH, N.. Transport Phenomena in Artificial Membranes. Chemical Reviews. 65 (5): 491-565, 1965.
- (27) SHOR, A.J. et alii. Hyperfiltration Studies. XI. Salt-Rejection Properties of Dynamically Formed Hydrous Zirconium (IV) Oxide Membranes. Journal of Physical Chemistry. 72 (6): 2200-2206, 1968.
- (28) MARCINKOWSKY, A.E. et alii. Hyperfiltration Studies. IV. Salt Rejection by Dinamically Formed Hydrous Oxide Membranes. Journal of the American Chemical Society. 88 (24): 5744-5746, 1966.
- (29) KUROKAWA, Yoichi & UENO, Kaory. Reverse Osmosis Rejection by Hydrous Inorganic Precipitate-Cellulose Composite Membrane. Journal of Applied Polymer Science. 27: 621-630, 1982.
- (30) ROGERS, C.E. et alii. Separation by Permeation Through Polymeric Membranes. In: LI, Norman N., editor. Recent Developments in Separation Science. Cleveland. Chemical Rubber, 1975. V. 2, p. 107-155.
- (31) SCHMIDT. Ann. Phys. Chem.. 99: 337, 1856. APUD: FERRY, John Douglass. Ultrafiltration Membranes and Ultrafiltration. Chemical Reviews. 18: 373-455, 1936.
- (32) BECHHOLD. Zeitschrift für Physikalische Chemie. 60: 257, 1907. APUD. FERRY, John Douglass. Ultrafiltration Membranes and Ultrafiltration. Chemical Reviews. 18: 373-455, 1936.
- (33) BELLUCCI, Francesco et alii. Protein Ultrafiltration: an Experimental Study. Journal of Applied Polymer Science. 19: 1639-1647, 1975.
- (34) PORTER, M.C. & NELSON, L.. Ultrafiltration in the Chemical Food Processing, Pharmaceutical, and Medical Industries. In: LI, Norman N., editor. Recent Developments in Separation Science. Cleveland. Chemical Rubber, 1975. V. 2, p. 227-267.

- (35) COOPER, Anthony R.. A History of Ultrafiltration Separations. In: FURTER, William F.. A Century of Chemical Engineering. Plenum Publishing Corporation, 1982. P. 449-457.
- (36) PLANT Will Convert Whey to Fuel-Grade Ethanol. Chemical and Engineering News. 60 (37): 7, 1982.
- (37) GALEMBECK, Fernando et alii. Rapid Sedimentation under Gravity. Basic Theory and Experimental Demonstrations. Journal of Physical Chemistry. 84 (1): 112-115, 1980.
- (38) PINHEIRO, Eduardo Antonio. Sedimentação Acelerada por Acoplamento Osmótico: Modelo Teórico e Verificação Experimental. Tese de Mestrado. São Paulo. 1982. 71 p..
- (39) LEWIS, Gilbert Newton & RANDALL, Merle. Thermodynamics. New York. Mc Graw-Hill, 1961.
- (40) MASON, Max & WEAVER, Warren. The Settling of Small Particles in a Fluid. Physical Reviews. 23: 412-426, 1924.
- (41) LANG, Von Hans. Zur Auswertung Osmotischer Messungen: Vorgänge an Senkrecht Angebrachten Membranen. Kolloid-Zeitschrift. 128 (1): 7-15, 1952.
- (42) GALEMBECK, Fernando et alii. Transport in Osmotically Coupled Systems. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 51: 173, 1979.
- (43) GALEMBECK, Fernando et alii. Approach to Sedimentation Equilibrium. A Comparison between Osmotically Coupled and Uncoupled Systems, Based on Free-Energy Dissipation Rates. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 53 (1): 25-28, 1981.
- (44) GALEMBECK, Fernando et alii. Osmotic Coupling: the Key to Faster Mass Transport Experiments. In: MITTAL & FENDLER. Solution Behavior of Surfactants. Plenum Publishing Corporation. 1982. V. 2, p. 1465-1475.
- (45) HASLAM, J. et alii. Identification and Analysis of Plastics. 2 ed. Bristol. Heyden and Son. 1981, p. 534-536, 689-690.

- (46) FILIPPI, Marco Antonio. Acetato de Celulose Tem 700 Cores. Química e Derivados. 1 (7): 32-37, 1966.
- (47) NAKANISHI, K. & SOLOMON, P.H.. Infrared Absorption Spectroscopy. 2 ed.. San Francisco. Holden Day, 1977.
- (48) SHOEMAKER, David P. & GARLAND, Carl W.. Experiments in Physical Chemistry. 2 ed.. Tokyo. Mc Graw-Hill Kogakusha, 1967. cap. 11, p. 278-286.
- (49) DANIELS, Farrington et alii. Experimental Physical Chemistry. 6 ed.. Tokyo. Mc Graw-Hill Kogakusha, 1962. cap. 13, p. 296-300.
- (50) BRANDRUP, J. & IMMERGUT, E.H., editors. Polymer Handbook. 2 ed.. New York. John Wiley and Sons, 1975.
- (51) NUNES, Suzana Pereira & GALEMBECK, Fernando. Preparation and Characterization of Cellulose Acetate Membranes for Osmosedimentation. Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition. 20: 000, 1982.
- (52) TISELIUS, A.. Electrophoresis of Serum Globulin. II. Electrophoretic Analysis of Normal and Immune Sera. Biochemical Journal. 31: 1464-1477, 1937.
- (53) SENTI, F.R. & WARNER, R.C.. X-Ray Molecular Weight of  $\beta$ -Lactoglobulin. Journal of the American Chemical Society. 70: 3318-3320, 1948.
- (54) SOBER, H.A. et alii. Handbook of Biochemistry. 2 ed. Cleveland. Chem. Rubber. 1970, 1622 p.
- (55) NISBET, A.D. et alii. The Complete Amino-Acid Sequence of Hen Ovalbumin. European Journal of Biochemistry. 115: 335-345, 1981.
- (56) BIRK, Y. et alii. A Pure Trypsin Inhibitor from Soya Beans. Biochemical Journal. 87, 281-284, 1963.
- (57) WALDEN, Paul. Über Diffusionserscheinungen an Niderschlagsmembranen. Zeitschrift für Physikalische Chemie. 10: 699-732, 1892.
- (58) MACK, C.. Essentials of Statistics for Scientists and Technologists. New York. Plenum/Rosetta Edition, 1975. 174 p.

- (59) VAN HOLDE, Kensal Edward. Bioquímica Física. São Paulo. Editora Edgard Blücher, 1975. Cap. 5 e 7.
- (60) FUJITA, H.. Mathematical Theory of Sedimentation Analysis. New York. Academic Press, 1962.
- (61) DAYHOFF, Margaret O. et alii. The Partial Specific Volumes, in Aqueous Solution, of Three Proteins. Journal of American Chemical Society. 74: 2515, 1952.
- (62) STRATHMANN, Von H. & SCHEIBLE, P.. Zum Bildungsmechanismus von Asymmetrischen Zelluloseazetatmembranen. Kolloid Zeitschrift und Zeitung Polymere. 246: 669-678, 1971.
- (63) COHEN, Claude et alii. Diffusion-Controlled Formation of Porous Structures in Ternary Polymer Systems. Journal of Polymer Science. 17: 477-489, 1979.
- (64) STRATHMANN, H. et alii. The Formation Mechanism of Asymmetric Membranes. Desalination. 16: 179-203, 1975.
- (65) KOENHEN, D.M. et alii. Phase Separation Phenomena During the Formation of Asymmetric Membranes. Journal of Applied Polymer Science. 21: 199-215, 1977.
- (66) JOHNSTON, H. Kirk & SOURIRAJAN, Srinivasa. Effect of Secondary Additives in Casting Solution on the Performance of Porous Cellulose Acetate Reverse Osmosis Membranes. Journal of Applied Polymer Science. 17: 2485-2499, 1973.
- (67) MAIER, Von K.H. & SCHEUERMANN, E.A.. Über die Bildungsweise Teildurchlässiger Membranen. Kolloid Zeitschrift. 171 (2): 122-135, 1960.
- (68) KUTOWY, O. & SOURIRAJAN, S.. Cellulose Acetate Ultrafiltration Membranes. Journal of Applied Polymer Science. 19: 1449-1460, 1975.
- (69) PAGEAU, Lucien & SOURIRAJAN, Srinivasa. Improvement of Porous Cellulose Acetate Reverse Osmosis Membranes by Change of Casting Conditions. Journal of Applied Polymer Science. 16: 3185-3206, 1972.

- (70) SOURIRAJAN, S. & KUNST, B. Cellulose Acetate and Other Cellulose Ester Membranes. In: Reverse Osmosis and Synthetic Membranes: Theory-Technology-Engineering. Ottawa. National Research Council Canada, 1977. Cap. 7, p. 129-152.
- (71) FROMMER, M.A. et alii. The Mechanism for Formation of "Skinned" Membranes. II. Equilibrium and Osmotic Flows Determining Membrane Structure. Desalination. 7: 393-402, 1970.
- (72) BLOCH, R & FROMMER, M.A.. The Mechanism for Formation of "Skinned" Membranes. I. Structure and Properties of Membranes Cast from Binary Solutions. Desalination. 7: 259-364, 1970.
- (73) FROMMER, Moshe A. et alii. Mechanism of Formation of Reverse Osmosis Membranes. Precipitation of Cellulose Acetate Membranes in Aqueous Solutions. Industrial Engineering Chemistry. Production, Research and Development. 10 (2): 193-196, 1971.
- (74) STRATHMANN, H. et alii. Preparation of Asymmetric Loeb-Sourirajan Membranes. Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition. 11: 201-205, 1973.
- (75) STRATHMANN, H. & KOCK, K.. The Formation Mechanism of Phase Inversion Membranes. Desalination. 21: 241-255, 1977.
- (76) BOVEY, F.A. & WINSLOW, F.H.. Macromolecules. An Introduction to Polymer Science. New York. Academic Press, 1979. p. 278.
- (77) URAGAMI, Tadashi et alii. Studies on Syntheses and Permeability of Special Polymer Membranes: 38. Formation Mechanism of Finger-like Cavities in Membranes from Cellulose Nitrate and Single Solvent. Polymer. 23: 999-1004, 1982.
- (78) URAGAMI, Tadashi et alii. Studies on Syntheses and Permeabilities of Special Polymer Membranes: 41. Finger-like Cavities in Cellulose Nitrate Membranes from Binary Organic Solvents. Polymer. 23: 488-491, 1982.

- (79) URAGAMI, Tadashi et alii. Studies on Syntheses and Permeabilities of Special Polymer Membranes. 22. Ultrafiltration Characteristics and Membrane Structure of Cellulose Nitrate Membranes. Die Angewandte Makromolekulare Chemie. 95: 35-44, 1981.
- (80) URAGAMI, Tadashi et alii. Studies on Syntheses and Permeabilities of Special Polymer Membranes. 40. Formation Conditions of Finger-like Cavities of Cellulose Nitrate Membranes. Desalination. 37: 293-305, 1981.
- (81) MATZ, R.. Structure of Cellulose Acetate Membranes I. Development of Porous Structures in Anisotropic Membranes. Desalination. 10 (1): 1-15, 1972.
- (82) GRÖBE, V. et alii. Structure Formation in Coagulating Polyacrylonitrile Solutions. Faserforsch. Textiltech.. 17 (4): 142-147, 1966. APUD: KOENHEN, D.M. et alii. Phase Separation Phenomena During the Formation of Asymmetric Membranes. Journal of Applied Polymer Science. 21: 199-215, 1977.
- (83) INTERNATIONAL Critical Tables of Numerical Data, Physics, Chemistry and Technology. New York. Mc Graw-Hill Book Co., 1929. v. 5, p. 148.
- (84) KUNST, Branko & GORAN, Petar. On the Pore Size Distribution in Asymmetric Reverse Osmosis Membranes. Journal of Colloid and Interface Science. 87 (2): 575-576, 1982.
- (85) KALININA, I.K. et alii. Functional Characteristics of Semipermeable Membranes and Their Calibration Against Various Substances. Journal of Applied Chemistry of the USSR. 54: 909-911, 1981.
- (86) ELMGREN, Hans. The Concentration Dependence on the Sedimentation Rate. I. Compact Macromolecules. Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition. 19: 561-565, 1981.
- (87) ELMGREN, Hans. The Concentration Dependence on the Sedimentation Rate. II. Permeable Polymer Coils with Heavy Segments. Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition. 19: 567-574, 1981.

- (88) ELMGREN, Hans. Concentration Dependence on the Sedimentation Rate. III. Flexible Polymer Coils. Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition. 20: 389-396, 1982.
- (89) THOMAS Scientific Apparatus Catalog. 1982/1983. p. 594.
- (90) ALDRICH Catalog/Handbook of Fine Chemicals. 1982/1983.