

Física



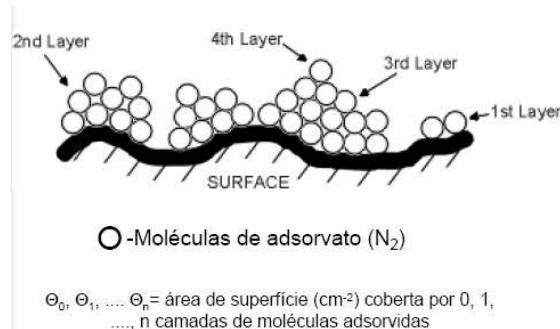
MODELO DE LANGMUIR E DE BET

Na última aula nós tínhamos ficado a distinguir o problema das substâncias, ou das interfaces sólido-gás para as quais a adsorção não se verifica segundo a isotérmica de Langmuir.

Porquê?

- superfície não uniforme
- velocidade de dessorção dependente dos locais onde a molécula foi adsorvida
- interacção entre espécies adjacentes adsorvidas (variações do calor de adsorção com o aumento de Θ)
- mobilidade das moléculas à superfície, elevada e aumenta com T

O modelo matemático proposto por Langmuir não é aplicável em determinadas condições sobretudo nos casos em que há interacção molecular quando as forças de ligação sólido-gás são demasiado fracas, isto é, não são do tipo químico e quando há formação de mais de uma camada. Temos aqui uma adsorção física:



Nesta situação, o aplicável são as isotérmicas de BET. Uma expressão empírica proposta por três químicos, cuja representação matemática é:

$$\frac{P}{V(P_0 - P)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{C-1}{V_m C} \times \frac{P}{P_0}$$

V- volume de gás adsorvido a uma dada pressão

V_m - volume correspondente a uma monocamada

C- constante para uma temperatura fixa T

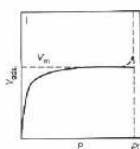
P_0 - pressão de vapor do adsorvido para a temperatura da experiência

$$C = \exp \left[\frac{(\Delta H_{cond} - \Delta H_{vap})}{RT} \right]$$

TIPOS DE ISOTÉRMICAS

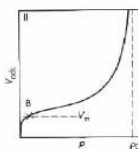
Também foi visto que, de acordo com o tipo de par adsorvente/adsorvato, se poderiam verificar diferentes tipos de isotérmicas:

Brunauer classificou as isotérmicas de adsorção em 5 tipos característicos



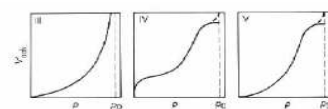
Tipo I - adsorção forte numa camada monomolecular (adsorção química pura)

Exp: amônia em carvão activo a 273 K)



Tipo II - adsorção forte (química) seguida de policamadas.

Exp: azoto em sílica gel a 273 K)



Tipo III - adsorção fraca (fisissorção) em policamadas

Exp: bromo em gel de sílica 352 K)

Tipo IV - adsorção forte (quimissorção) em material poroso, seguida de fisissorção

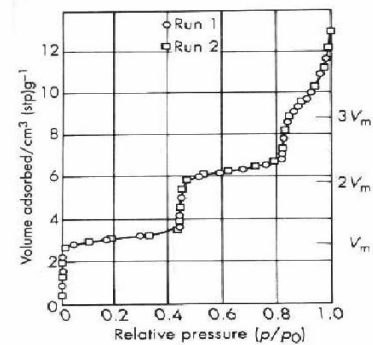
Exp: benzeno em gel de óxido de ferro (III) a 320 K)

Tipo V - adsorção de água (quimissorção) em material poroso e em policamadas

Exp: vapor de água em carvão activo a 352 K)

Isto é, se usamos adsorção em função da concentração de gás que é colocado frente ao adsorvente, poderia ter semelhança com uma isotérmica de Langmuir ou deste tipo, estando aqui indicados exemplos característicos onde isso se verifica. Ou eventualmente, o acréscimo contínuo da quantidade de substância adsorvida tem que chegar à saturação mesmo antes de chegar à solução o vapor saturante.

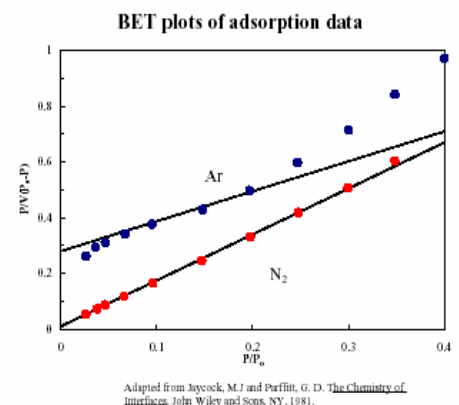
Significa que, mesmo para determinarmos os pares adsorvente/adsorvato, a proposta de BET (Brunauer, E... e Teller) não é válida. Aqui está um exemplo em que a adsorção de cripton se faz em negro de fumo e como se pode ver, o que ocorre são semi-isotérmicas de Langmuir em nada parecidas com as isotérmicas de BET:



VERIFICAÇÃO EXPERIMENTAL DO MODELO

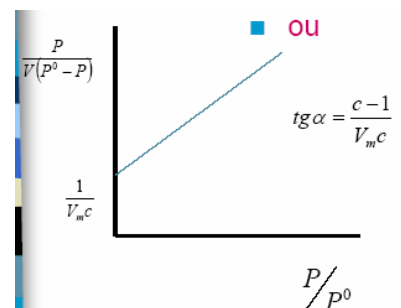
Significa então que para tirar teimas no sentido de verificar se o modelo aplicável é o de Langmuir ou o de BET, o que se faz é registrar experimentalmente quais são os valores da quantidade de substância adsorvida em função da pressão do gás e traçar a correspondente isotérmica. A forma de ver se esses pontos experimentais coincidem ou não com o modelo é da forma como o gráfico mostra.

Se houver linearidade, então estamos perante a isotérmica de BET. Se não houver linearidade, naturalmente poderá ocorrer uma exceção, como foi mostrado, e a forma mais simples de se tirar teimas é através do valor de adsorção, isto é, recorrendo não a um parâmetro quantitativo mas sim a um parâmetro qualitativo. Aqui está o exemplo da forma como se faz a verificação da isotérmica de BET:



$$\frac{x}{V(1-x)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{(c-1)x}{V_m C}$$

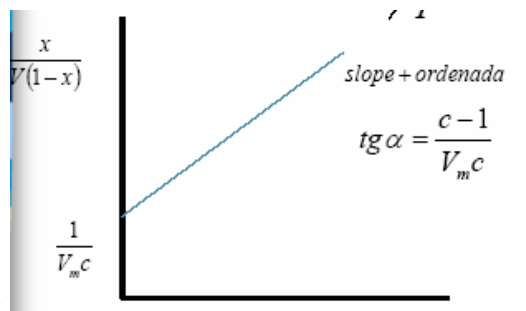
Perante os valores matemáticos, vocês relacionam-nos, como mostra o gráfico. Naturalmente que têm uma recta, recta essa cujo coeficiente angular vos vai dar o valor do volume da monocamada e a ordenada na origem. Se por acaso se preferir substituir P/P_0 por um factor X que corresponde à relação, a representação dada é esta:



como

$$x = \frac{P}{P_0}$$

ENTÃO →



$$\frac{c-1}{cV_m} + \frac{1}{cV_m} = \frac{1}{V_m}$$

$$V_m = \frac{1}{\text{slope} + \text{intercepção}}$$

Os parâmetros quer da ordenada na origem quer de declive são os mesmos que se repetiram em cima.

ÁREA DE SUPERFÍCIE DOS SÓLIDOS

O interesse de determinar V_m é o interesse de avaliar a área de superfície de um sólido que tinha importância quer do ponto de vista social, quer do ponto de vista terapêutico.

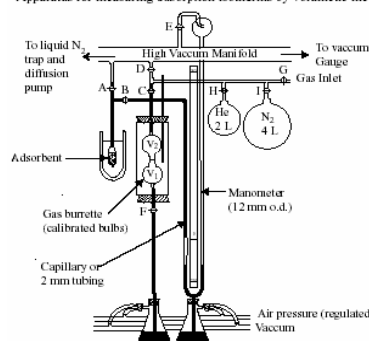
A forma mais simples de avaliar é utilizar equipamento como aqui está representado, em que um determinado sólido é colocado em contacto com um gás (naturalmente esse gás tem de ser inerte para não reagir com a substância em questão ou com o sólido em questão) e medir qual é a pressão de gás que atinge o sólido e, ao fim de algum tempo registar ou o volume de gás que ficou fixado no sólido (e então estamos presente a um método volumétrico) ou então ver qual é o peso de gás que entretanto ficou adsorvido no sólido (e então estamos frente a um método gravimétrico). Claro está que esta quantidade em volume ou em peso vai servir para determinar a **área superficial específica** de sólido que no fundo corresponde a uma relação entre a área de superfície do adsorvente e a massa de adsorvente. Essa medida da seguinte forma:

$$\frac{\text{volume gás adsorvido}}{\text{unidade massa adsorvente}}$$

O processo experimental de medir o volume é muito mais simples do que medir a massa. Como tal, o que se pode fazer é medir o volume de gás que é adsorvido por unidade de massa de adsorvente. Em função disso, o que se faz é calcular o nº moles adsorvidas por g de adsorvente, nesta só camada, e dividir pelo volume molar do gás (V_m).

Depois calculam-se o nº moléculas. Esse cálculo é feito multiplicando pela constante de Avogadro. A seguir, multiplica-se pela área correspondente a uma molécula (esta área está definida e estipulada) e em função dos valores aqui calculados, sabe-se então a área superficial da espécie sólida que vem expressa em m^2/g .

Apparatus for measuring adsorption isotherms by volumetric method



Adapted from Figure 3 of Shomaker, David P., Garland, Carl W., and Noller, Joseph W., Experiments in Physical Chemistry, McGraw-Hill Inc, New York, 1989.

$$A = \frac{\text{área de superfície do adsorvente} [\text{m}^2]}{\text{massa do adsorvente} [\text{g}]}$$

■ Como calcular?

1. N° moles adsorvidas por grama de adsorvente na monocamada (dividir pelo volume molar do gás)- (n_m)
2. N° moléculas (multiplicar pela constante Avogadro) (L)
3. Multiplicar pela área ocupada por uma molécula de adsorvido (a_m)

$$A = n_m \times a_m \times L$$

$$A = m^2 / g$$

a_m = área de superfície de uma molécula

n_m = capacidade da monocamada em moles/g

Não esquecer que, experimentalmente, se determina é V_m e não a área da monocamada.

Sendo assim, para determinar a área da monocamada, é preciso dividir o V_m (calculado quer pela intersecção da recta, quer pelo declive da recta) pelo V_m do gás para depois multiplicar pelo n° de Avogadro e, logo a seguir, pela área específica de cada uma dessas moléculas. O valor 10^{-20} que aqui está indicado no fundo corresponde a um factor de correcção porque a área definida para uma molécula só, vem habitualmente definida em Å (angstrom) ou como o valor de área de superfície vem definido em m^2/g , tenho de transformar Å em m (metro) que no fundo corresponde a um factor de correcção.

■ Então.....

$$A = \frac{V_m}{22414} L a_m 10^{-20}$$

$$V_m = cm^3/g$$

$$22414 = \text{Volume molar gás em } cm^3$$

$$a_m = \text{Å}^2 \times 10^{-20} m^2$$

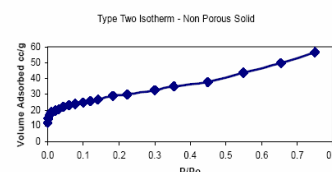
$$A = m^2 / g$$

CONCRETIZAÇÃO PRÁTICA

Um exemplo prático de como fazer tudo isto está aqui definido:

Está uma tabela onde para 2 de P em função da pressão de vapor do gás, eu registo o volume de adsorvido pelo sólido. O que faço a seguir é traçar experimentalmente a correspondente isotérmica (quantidade de substância adsorvida vs pressão de gás em contacto com o sólido). O aspecto da isotérmica não pode ser confundido com uma isotérmica de Langmuir já que não há uma saturação completa da superfície mas sim um acréscimo contínuo da quantidade de substância adsorvida. Mesmo assim poderá acontecer de não se tratar de uma isotérmica de BET.

p/po	Volume Adsorbed cc/g
0.001	12
0.003	15
0.005	17
0.010	19
0.021	20
0.033	21
0.045	22
0.059	23
0.079	24
0.099	25
0.119	26
0.141	27
0.183	29
0.223	30
0.301	33
0.353	35
0.449	38
0.550	44
0.654	50
0.750	57



Aqui estão os cálculos referentes a estas representações que se pretendem.

■ Recorde...

$$\frac{\frac{P}{P_o}}{V(1 - \frac{P}{P_o})} = \frac{1}{V_m C} + \frac{(C-1) \frac{P}{P_o}}{V_m C}$$

■ Represente

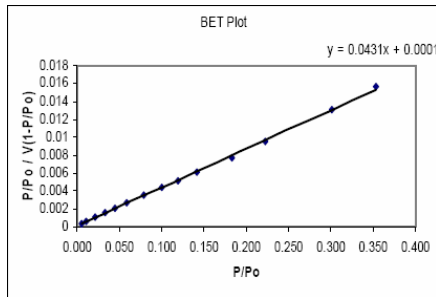
$$\frac{\frac{P}{P_o}}{V(1 - \frac{P}{P_o})}$$

em função de

$$\frac{P}{P_o}$$

p/po	P/Po / V(1-P/Po)
0.001	0.0001
0.003	0.0002
0.005	0.0003
0.010	0.0006
0.021	0.0011
0.033	0.0016
0.045	0.0021
0.059	0.0027
0.079	0.0036
0.099	0.0044
0.119	0.0052
0.141	0.0061
0.183	0.0077
0.223	0.0095
0.301	0.0131
0.353	0.0156
0.449	0.0214
0.550	0.0277
0.654	0.0379
0.750	0.0526

Depois faz-se o gráfico:



A ordenada na origem é

$$\frac{1}{V_m C}$$

O declive é

$$\frac{(C-1)}{V_m C}$$

Efectivamente dá uma linha recta que a ordenada na origem é esta que está indicada, o declive é o que aqui está representado. Daqui é possível retirar o valor de V_m que depois servirá para calcular a área de superfície do sólido que, de acordo com o valor da área para uma molécula, sendo que o gás que está envolvido é o azoto, ficamos a saber que

$$\frac{(C-1)}{V_m C} = 0,0432$$

$$\frac{1}{V_m C} = 0,0001$$

$$C = 432 \text{ e } V_m = 23,2 \text{ cm}^3/\text{g}$$

$$A = \left(\frac{V_m}{22414} \right) \times 16,2 \times 10^{-20} \times 6,022 \times 10^{23}$$

Para $N_2 \Rightarrow a_m = 16,2 \text{ Å}^2$

$$A = 101 \text{ m}^2/\text{g}$$

Para um dado adsorvente, A é independente da natureza do adsorvato

neste caso a área de superfície deste sólido é igual $101 \text{ m}^2/\text{g}$. Significa então que a área específica de uma molécula decorre do valor de V_m determinado experimentalmente a dividir pelo V_m do gás vezes o n° de Avogadro.

INTERFACES SÓLIDO-LÍQUIDO E LÍQUIDO-LÍQUIDO

Passemos então a interfaces em que estarão em contacto sólidos/líquidos e líquidos/líquidos. Nestas interfaces não vamos jogar com um fenómeno que nos recordamos. Quando falamos em superfícies líquidas, os fenómenos que nos interessam são a tensão superficial (líquido/gás e líquido/líquido), a adsorção e a detergência (líquido/líquido e sólido/líquido). Neste tipo de interfaces sólido/líquido e líquido/líquido, o fenómeno muito importante do qual vamos falar é o fenómeno da detergência.

Recordemos então o que é a adsorção:

$$\text{Adsorção} = \frac{\text{n}^\circ \text{ moles de adsorvato}}{\text{g ou unidade de área (cm}^2\text{) de adsorvente}} = T_{(T,P)} = \frac{n}{\text{cm}^2}$$

O que normalmente se faz para registar a adsorção é medir o decréscimo de pressão ou da concentração das espécies no seio da fase. Ou medir a pressão ou o volume do adsorvato adsorvido por uma determinada quantidade de adsorvente.

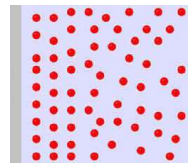
Nesta interface líquido/líquido vamos reportar-nos à concentração. Portanto a forma de registar a adsorção é medir o decréscimo de concentração no interior da fase ou medir o volume/quantidade adsorvida à superfície. Um dos métodos é aquele utilizado no trabalho prático nº1 em que se regista a quantidade de substância que inicialmente se coloca em contacto com o sólido (carvão activado neste

caso) para, passado algum tempo da adsorção, medir a quantidade de substância que ficou. A diferença dá-nos o resultado da quantidade adsorvida.

CARACTERÍSTICAS SÓLIDO-LÍQUIDO

Na interface sólido-líquido, muitas vezes não se consegue definir exactamente se a interface tem características sólidas ou se tem características líquidas.

Quase que custa a admitir que os sólidos ou as suas moléculas, conseguem destacar “organicamente” para passarem à fase líquida e vice-versa. E muitas vezes pensa-se que esta interface, que tem características especiais (senão não seria uma interface), é apenas constituída por moléculas de soluto. Não é verdade, esta dúvida surge a muitos autores e aqui está o modelo que só consegue definir efectivamente o que se passa nessa interface. Existem ambos os tipos de moléculas ou existem apenas moléculas líquidas.



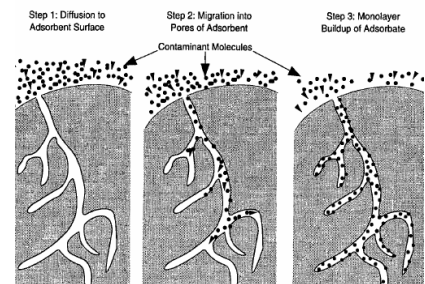
Mas que é verdade que existem os dois tipos de moléculas, existem.

MECANISMOS DE ADSORÇÃO

Como é que se dá a adsorção de um líquido num sólido?

Em primeiro, há o processo de aproximação. As moléculas de adsorvato vão-se difundindo e vão-se aproximando de uma determinada zona de superfície sólida.

A seguir tem de haver uma fase de migração. Só depois é que ocorre a adsorção e então as moléculas formam então uma camada, isto é, não se sobrepõem umas sobre as outras. Ficam ligadas ao sólido formando uma camada única.



Um dos fenómenos que estudaremos posteriormente, que é o fenómeno de transporte, nomeadamente a difusão, também tem ligação neste processo de adsorção.

O fenómeno da adsorção de sólidos em líquidos é extremamente importante já que, corresponde à incorporação de substrato em detectores celulares, isto é, qualquer substância que se aproxime de uma célula tem primeiro de migrar para perto da célula a partir de um certo tipo de transporte, logo a seguir é adsorvida à superfície da célula e dispõe-se para a absorção ou o substrato dispõe-se numa camada monomolecular. É um dos exemplos de rebocados contaminantes.

A SUA IMPORTÂNCIA

A técnica de cromatografia baseia-se exactamente neste tipo de adsorção. É um método de eliminação de impurezas e purificação de proteínas como veremos em devido tempo.

Este fenómeno é a base de:

- Incorporação de substratos em receptores celulares
- Remoção de contaminantes
- Técnica de cromatografia de adsorção

- Método de eliminação de impurezas
- Purificação de proteínas

COMO DETERMINAR A CAMADA ADSORVIDA

1. Método directo

- Introduzindo na solução uma forma radioactiva do adsorvato
- Medindo a radioactividade do adsorvente após a remoção da solução

2. Método indirecto

- Determinação da quantidade de soluto no seio da solução, antes e após o equilíbrio com o adsorvente.
- Calculo do valor aparente de V a partir da variação da concentração.

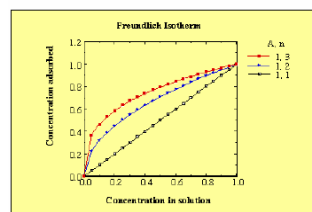
A forma normal de determinarmos a camada adsorvida, ou seja, a quantidade de substância adsorvida, é usando o método directo ou o indirecto. O método directo é extremamente contaminante e caro já que obriga à introdução de uma forma radioactiva no adsorvato, e o registo da radioactividade desse adsorvato à superfície do sólido. Obriga portanto à utilização de métodos que obrigam a cuidados especiais sendo normal recorrer-se à utilização de um método indirecto. No método indirecto, a determinação da quantidade de soluto que tenho na solução, antes e após o equilíbrio de adsorção, é o que habitualmente se faz. Depois, calcular o volume ou quantidade que, aparentemente se ligou ao adsorvente a partir da variação da concentração no seio da fase. Por isso mesmo pegamos no carvão, sabemos qual a quantidade de ácido acético inicial que vamos colocar em contacto directo com o carvão, para logo depois da adsorção registarmos a quantidade que ficou por adsorver para sabermos quanto foi adsorvido.

ISOTÉRMICAS CARACTERÍSTICAS

Quando se utiliza o método directo, o que se obtém é aquilo que se designa por isotérmicas individuais ou isotérmicas verdadeiras.

Já que, sendo possível marcar somente o soluto e registar a sua adsorção pelo adsorvente, eu posso determinar em concreto depois de medir a radioactividade, eu posso medir a concentração adsorvida em função da concentração colocada em contacto com o sólido. No indirecto é impossível acontecer já que o que eu meço é o soluto e todas as moléculas que eu solvato, isto é, não consigo saber se

■ Exemplo: Isotérmicas individuais verdadeiras



Concentration adsorbed
= x/m ou n/m

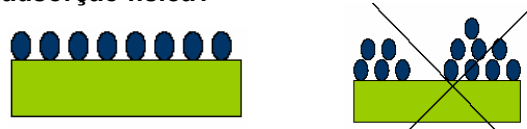
Concentration in solution
= c ou X_1

X = massa soluto adsorvido (Kg)
 n = nº moles soluto adsorvidas
 m = massa adsorvente (Kg)
 c = concentração mássica (molar ou molal)
 x_1 = fracção molar soluto

no carvão ficou somente ácido acético, ou se também ficaram ligadas moléculas de água, o que é provável. Nessa altura, as isotérmicas são isotérmicas aparentes.

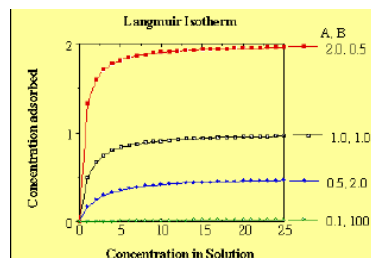
Estas isotérmicas não têm nada a ver com as outras.

O que se regista não é uma quantidade adsorvida real mas apenas uma quantidade aparente que se expressa pela concentração adsorvida em função da massa de adsorvente versus concentração inicialmente colocada em contacto com adsorvente. **A grande questão é porque é que na adsorção de líquido/sólido se tem formação de uma monocamada e não de multicamadas como na adsorção física? Será que a adsorção é física ou química, ou não será física com formação de uma só camada? Ou em definitivo uma adsorção física?**

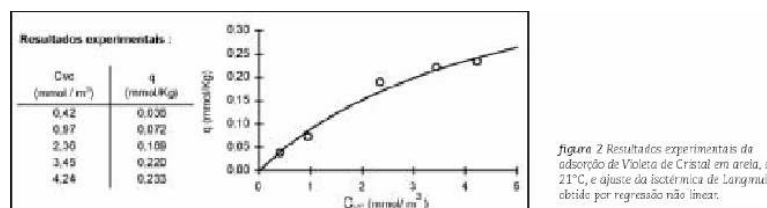


Não é normal a ocorrência de formação de multicamadas porque, se tivermos uma solução, ficamos surpreendidos que a ligação soluto/solvente é muito estável. Se há moléculas que vão ficar ligadas ao adsorvente é porque provavelmente a ligação soluto/sólido é mais estável do que a ligação que tinha o soluto com solvente. Se assim é, não é provável que a ligação soluto/sólido, (é muito mais forte que a soluto/solvente), então não é provável que venham moléculas de solvente depositar e, assim, haverá exclusivamente formação de monocamada. Só ocorrerá formação de multicamada se eventualmente houver uma adsorção química inicial e, por cima, uma adsorção física mas não (?). Normalmente isso acontece em relação ao contaminante.

Mas sendo uma adsorção física com formação de monocamada, como distinguir da verdadeira adsorção química de um gás-sólido?



Distingue-se pelo calor de adsorção.



Registam-se as diferentes isométricas a diferentes temperaturas e através dos valores registados em cada ponto, faz-se a concentração (ou quantidade de substância adsorvida) vs concentração de soluto em contacto com o sólido.

Fazendo isso para diferentes temperaturas, podemos, registando o declive da recta em função do gráfico, saber qual os valores de ΔH que neste caso 12.1 é extremamente baixo para imaginar se posso saber se temos adsorção química.

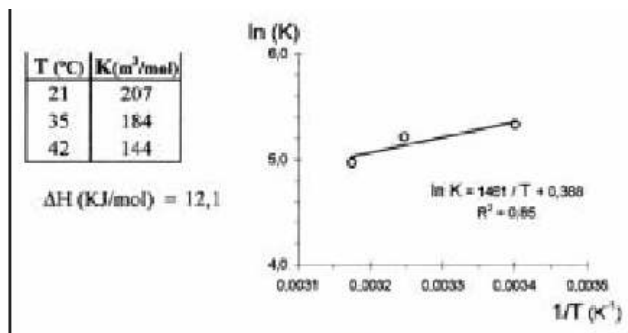


figura 3- Efeito da temperatura na constante de equilíbrio de adsorção de Violeta de Cristal em areia (K's determinados pela isotérmica de Langmuir) e regressão não linear.



Trata-se por isso de uma adsorção física

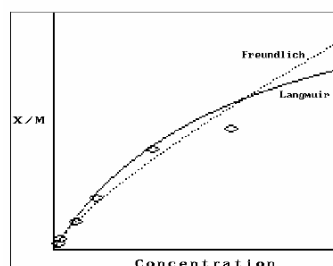
Efectivamente há adsorções químicas de líquidos em sólidos. Nestas alturas é impossível reverter a reacção.

Se tivermos um pouco de carvão onde passamos adsorvente de refinados tóxicos, por mais que se queira reverter a reacção, o tóxico não mais se desliga.

Se no trabalho prático registado nas aulas (adsorção do ácido acético pelo carvão) se quiser, e com o tratamento adequado, pode-se colocar o carvão em condições de ser efectuada nova adsorção.

Em conclusão, podemos apresentar dois tipos de modelos para a adsorção de líquidos em sólidos: o de Langmuir e o, meramente empírico, denominado isotérmica de Freundlich (ensaiado nas aulas práticas).

Em conclusão.....



Isotérmicas de adsorção aparentes para uma substância em solução ou numa mistura líquida

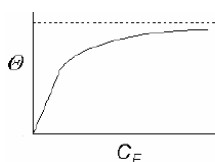
ISOTÉRMICA DE FREUDLICH APLICADA À ADSORÇÃO DE LÍQUIDOS POR SÓLIDOS

A aplicação do modelo de Langmuir à adsorção líquido/sólido pode ser representada desta forma:

$$\Theta = \frac{bP}{1 + bP} \text{ ou } \Theta = \frac{bc}{1 + bc}$$

Naturalmente, tudo o que se refere a P (concentração do gás), posso neste caso substituir por C (concentração de soluto), que nos é dado pelo registo de nº de moles de soluto adsorvidas por unidade de peso de adsorvente relativamente ao nº de moles de locais de adsorção por unidade de peso de adsorvente.

Então, sabendo que a constante de equilíbrio da reacção pode ser definida pela razão entre a fracção molar (ou



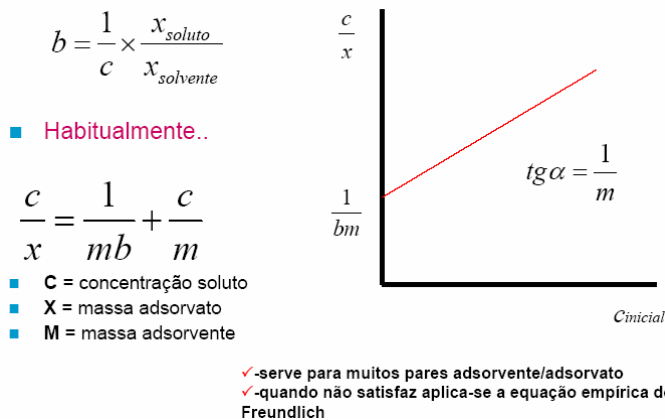
- n_1 - nº moles de soluto adsorvidas por unidade de peso de adsorvente
- n - nº moles de locais de adsorção por unidade de peso de adsorvente

$$\Theta = \frac{n_1}{n} \Rightarrow n_1 = n\Theta$$

$$n_1 = \frac{ncb}{1 + bc}$$

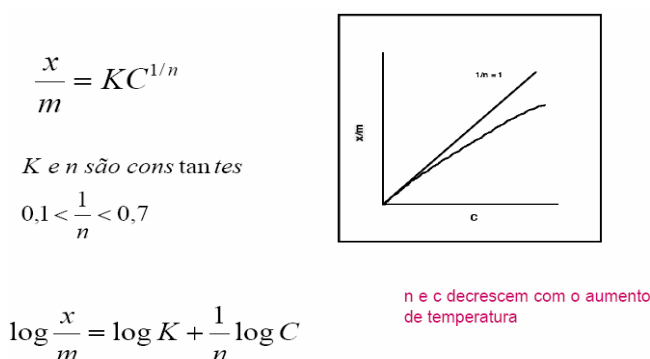
quantidade de soluto) vs a quantidade de solvente, eu posso exprimir a relação anterior pela seguinte expressão em que tenho uma recta em que, fazendo representar a concentração de soluto vs a massa de adsorvato em função da concentração inicial, terei como ordenada na origem $1/bm$ e o declive $1/m$.

Esta isotérmica é adequada para muitos pares adsorvente/adsorvato. Mas no momento em que não satisfaça, é possível recorrer à isotérmica de Freundlich.



ISOTÉRMICA DE FREUNDLICH

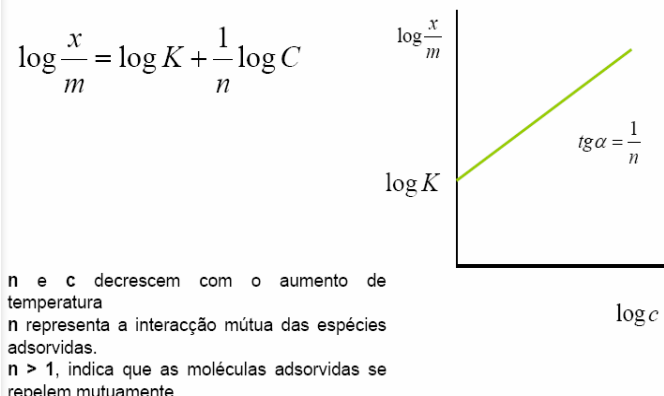
Freundlich, depois de fazer uma série de ensaios experimentais, verificou que a quantidade de substância adsorvida em função da massa de adsorvente era directamente proporcional à concentração de soluto elevado a um exponencial. Esse exponencial n que determina a maior ou menor interacção das moléculas com o próprio solvente, se caísse dentro de determinados limites, nomeadamente 0,1 e 0,7, poderia ser usado para analiticamente determinar a quantidade de substância adsorvida em função da concentração.



- E equação empírica de Freundlich representa satisfatoriamente os resultados que se obtêm para uma grande gama de valores de Θ e para sistemas que não seguem o modelo de Langmuir
- A equação pode ser derivada teoricamente, assumindo que o calor de adsorção decresce com o logaritmo de Θ
- n representa a interacção mútua das espécies adsorvidas
- $n > 1$ indica que as moléculas adsorvidas se repelem umas às outras.

Para isso, e porque a expressão que ele inicialmente idealizou não dava uma linha recta, era necessário linearizá-la. E no momento em que a expressão de x/m em função de c não dá uma linha recta, logaritmizamos a solução e passaremos a ter uma função linear.

Esta equação representa satisfatoriamente a maioria das adsorções de líquidos em sólidos e n representa a acção mútua das espécies adsorvidas. E quando ela é menor que 1, é previsível que a ligação ao adsorvente



seja muito forte, o que não acontece quando n é maior que 1. Aí, a repulsa entre as moléculas é tão grande que dificulta o processo de adsorção.

Se, depois de calcularmos experimentalmente a expressão x/m e se representarmos a função de $\log x/m$ em função de $\log c$, podemos obter, segundo Freudlich, uma recta. Recta essa cujo declive, a ordenada na origem é $\log K$ e o declive é $1/n$.

O significado físico deste equilíbrio é, quanto maior for m , menor é a capacidade que o soluto tem de se ligar a aquele adsorvente.

O valor de K no fundo, é a apetência inicial que o próprio adsorvente tem para o soluto. São exactamente esses dois parâmetros que são pedidos para registar no trabalho 1 e para fixar o correspondente significado.

FACTORES QUE INFLUENCIAM A ADSORÇÃO

Existem diversos factores que influenciam a adsorção na interface sólido-líquido. Não estabelecemos uma regra única, fixa.

1- Natureza do adsorvato e do solvente

- 1.1- Compostos inorgânicos são fracamente adsorvidos, excepto halogéneos
- 1.2- Compostos orgânicos alifáticos são fortemente adsorvidos
- 1.3- Compostos aromáticos policíclicos com estrutura mesomérica são os mais fortemente adsorvidos

2- Natureza do adsorvente

- 2.1- Adsorvente polar adsorverá preferencialmente o componente mais polar da solução.
- 2.2- Adsorvente não polar adsorverá preferencialmente o componente menos polar da solução.
- 2.3- O grau de adsorção numa série homóloga de substâncias orgânicas em solução aquosa, por um adsorvente apolar, aumenta com o nº de átomos de carbono da série (Regra de Traube).
- 2.4- A adsorção de substâncias orgânicas, por um adsorvente polar, diminuiu com o aumento do nº de átomos de carbono da série.

Um dos factores é o tipo de adsorvato e o tipo de solvente. Por exemplo, os compostos inorgânicos são mais fracamente adsorvidos do que os compostos orgânicos, excepto no que se refere aos halogéneos. Tem a ver com a capacidade de ligação que eles podem receber devido à sua nuvem electrónica.

Os compostos orgânicos alifáticos são fortemente adsorvidos. Por isso, devido ao carboneto alifático são substâncias altamente tóxicas. Os compostos aromáticos policíclicos com estrutura mesomérica também são fortemente adsorvidos. Tudo o que seja armado com radicais já tem mais dificuldade de adsorver. Esta sequência de adsorção não é para decorar, porque quando queremos saber se determinado composto é mais fortemente adsorvido que outro, consultam-se tabelas onde estão referidas constantes de informação para pares adsorvente/adsorvato. Porque muito embora isto aconteça da forma qualitativa que foi apresentada, isto é se admitirmos que o adsorvente é o mesmo em todas as circunstâncias, ou seja, estou a comparar o que aqui se passa para o mesmo adsorvente. Mas se entretanto mudar de adsorvente, eu já não posso comparar situações diferentes porque adsorventes

polares têm tendência a adsorver mais facilmente substâncias polares. Já os adsorventes não polares preferem adsorver substâncias não polares. Semelhante adsorve semelhante.

Numa cromatografia, se quisermos que uma substância progrida mais rapidamente numa coluna cromatográfica, e se for apolar, teremos que escolher uma coluna polar.

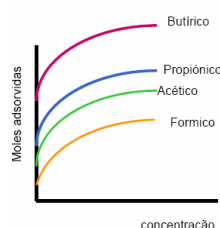
O grau de adsorção para um determinado adsorvente, uma série homóloga de substâncias orgânicas quando estão em solução aquosa, aumenta com o número de átomos de carbono, se o adsorvente for apolar. Se for polar, acontece precisamente o contrário.

O ácido fórmico tem menos átomos de carbono que o ácido acético, o propiónico e o butírico.

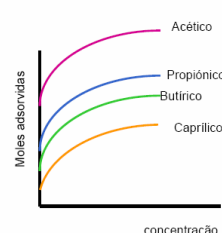
O grau de adsorção do ácido butírico é muito maior que o do fórmico.

A quantidade de substância adsorvida para a mesma quantidade colocada em contacto, é muito maior para o butílico do que para os outros. Assim sendo, tenho de imaginar que este adsorvente tem características apolares.

■ Adsorção de ácidos gordos em solução aquosa por carvão activado



■ Adsorção de ácidos gordos em tolueno por gel de sílica



No gráfico que vem a seguir, vemos a ordem, que é inversa. Nesta altura, o adsorvente de utilizam tem características mais polares, como é o caso do gel de sílica.

3- Concentração do adsorvato

- 3.1- A adsorção é tanto maior quanto mais diluída é a solução
- 3.2- A dessorção é tanto mais fraca quanto menor for a quantidade de substância adsorvida

Outro factor que influencia a adsorção é a concentração de adsorvato. A concentração é tanto maior, quanto mais diluída for a solução. Pode parecer um contratempo, mas não o é. Por exemplo, se tivermos uma molécula aqui e outra ali, tenho a certeza de que não vão “embicar” uma com a outra, e portanto não vão a correr para o local de adsorção. Desta forma, a adsorção faz-se mais facilmente.

Se, pelo contrário, eu tiver moléculas muito juntas, elas vão todas a “correr” para os locais de adsorção. Isto vai então dificultar a adsorção.

Por isso, porque a adsorção é tanto maior quanto mais diluída for a solução, explica o difícil que é remover quantidades vestigiais de um contaminante em determinadas substâncias tóxicas.

Se consultarem um frasco de reagente sólido, vêem que há sempre uma listagem de impurezas. Um reagente pode ter 99,9% de substância pura, que é aquele a que se chama normalmente de reagente pró-análise. Mas é impossível remover essas impurezas que estão em 1%, porque, estando elas tão diluídas, elas facilmente são absorvidas. Sendo a remoção um processo tão complicado, o reagente tornar-se-ia extremamente caro.

4- Solubilidade do adsorvato

- 4.1- A adsorção aumenta sempre que a solubilidade do adsorvato diminui
- Explos:
 - Meio ácido- ácidos gordos e sais de amónio quaternário

- Meio alcalino- alcalóides e bases orgânicas

A solubilidade do adsorvato também é outro factor que influencia. Isto porque quanto menos solúvel for o soluto no solvente, se ele não sentir apetência pelo solvente, vai sentir apetência pelo adsorvente sólido. Portanto a adsorção vai aumentar sempre que a solubilidade diminuir do soluto no solvente.

5- Características físicas do adsorvente

- 5.1- Porosidade, estado da superfície, valor da superfície total

As características físicas do adsorvente também determinam a adsorção, nomeadamente a porosidade, o estado de superfície, inclusivamente o valor da área de superfície de adsorvente.

Quanto maior for a área de superfície, mais são. Quanto mais expurgado se fizer o adsorvente, quanto mais tratado estiver o estado da sua superfície, mais rápido se faz a adsorção. No que se refere à porosidade, acontece da mesma forma.

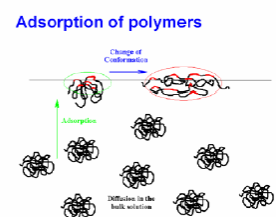
ADSORÇÃO DE POLÍMEROS NA INTERFACE SÓLIDO-LÍQUIDO

O que acontece em termos de adsorção para substâncias ou moléculas pequenas, nem sempre se aplica a macromoléculas, a polímeros.

O que acontece é que, no nosso organismo, (tirando o sódio, o magnésio e o potássio e essas substâncias que são transportadas até às células) tudo o resto que nos chega às células, são substâncias macromoleculares.

A adsorção de polímeros, muitas vezes não segue as mesmas regras que as da moléculas pequenas. As isotérmicas que se aplicam a moléculas pequenas, não são adaptáveis à adsorção de polímeros. Por isso, muitas vezes é difícil prever, numa situação de diagnóstico, o que vai acontecer a determinado doente se for administrado algo que vai mostrar aquele componente para que possa deixar outro ser adsorvido.

- Porque é diferente relativamente à adsorção de substâncias de baixo peso molecular?
- Porque diferentes factores influenciam a adsorção:
 - natureza molecular das moléculas
 - diferentes conformações nas cadeias macromoleculares
 - grau de inter-penetração das cadeias e grau de agregação (excluindo soluções extremamente diluídas)



Exactamente porque não há um modelo que se aplique à adsorção dessas macromoléculas, tudo passa um pouco pela zona de imaginação do médico, que, muitas vezes por tentativas, vai conseguindo originar o tratamento ao doente.

O que pode influenciar a adsorção de polímeros é a natureza das moléculas, inclusive a sua conformação (não têm todas a mesma forma: bastonete, redondas, esticadas...). Os sistemas macromoleculares são sistemas habitualmente polidispersos, ou seja, com moléculas de diferentes tipos.

Outro factor que influencia é o grau de interpenetração das próprias cadeias e o estado de agregação em que elas se encontram.

Contradições:

- A) experimentalmente os valores correspondem à isotérmica de Langmuir mas medidas independentes indicam a formação de multicamadas
- B) A fracção de substância adsorvida aumenta com o aumento de temperatura

- Os biopolímeros têm um elevado nº de grupos químicos que podem intervir na reacção
- A alteração na forma tridimensional do polímero depois de ter ocorrido a ligação

Muitas vezes, parece que o modelo de BET é do tipo de Langmuir, e depois vai-se calcular a fracção de substância adsorvida em função da temperatura e acaba por contradizer todo o modelo de Langmuir. Por isso mesmo, a adsorção de polímeros ainda está em estudo e ainda não é uma ciência completamente estabelecida nem quantificada.

ADSORÇÃO DE LÍQUIDOS POR SÓLIDOS: ODER ADSORVENTE DOS SÓLIDOS

O **poder adsorvente**, no fundo, indica a quantidade que é adsorvida por uma determinada área de adsorvente, ou seja, pela superfície específica do sólido.

A **forma de determinar** é naturalmente pegar numa quantidade definida de adsorvente, agitá-lo com um determinado volume de solução e depois por um processo indirecto determinar a diminuição da concentração de adsorvato no seio da fase e a partir daí calcular a quantidade adsorvida.

Para quê? Para depois de determinar o número de moles, ou seja o x sobre m , quantidade de substância adsorvida por grama de adsorvente em função do peso molecular do adsorvente, multiplicamos pelo número de avogrado para determinar o número de moléculas, e pela área específica de cada molécula saber o poder específico de um sólido.

O que é o poder específico de um sólido?

Parâmetro que nos indica que uma determinada superfície de um sólido tem a capacidade para adsorver x moléculas de adsorvato, desde que a área específica de cada molécula, seja uma determinada.

Adsorção de líquidos por sólidos: poder adsorvente dos sólidos

■ Poder adsorvente

Quantidade de substância adsorvida por cm^2 de adsorvente (superfície específica ou superfície eficaz)

■ Como se determina?

- 1- Agitar um determinado peso de adsorvente com um determinado volume de solução
- 2- Determinar a diminuição da concentração de adsorvato na solução
- 3- Calcular a quantidade adsorvida por grama de adsorvato

■ Como se quantifica?

$$S_a = \frac{x}{M} \times N \times A$$

X - quantidade de substância adsorvida/grama adsorvente

M - peso molecular da substância adsorvida

N - nº Avogadro

A - área ocupada por uma molécula de adsorvato sobre a superfície de adsorvente

Um exemplo clássico deste calculo:

A desionização da água é feita através duma resina de permuta iónica, isto é, a água passa através duma resina catiónica, troca todos os seus catiões, nomeadamente sódio, magnésio, potássio e esperandos que não haja metais pesados como o zinco chumbo, etc. por H^+ .

Logo a seguir passa por uma resina aniónica e troca todos os seus aniões, nomeadamente cloreto ou outros por OH^- . H^+ com OH^- dá água, água pura sem iões.

Ora, não se pode pôr uma litrada de água da torneira a circular por uma resina sem saber antecipadamente qual é o poder adsorvente da resina, isto é, qual é a capacidade que essa resina tem de adsorver à sua superfície um determinado número de moléculas que existem na água da torneira, quer catiões, como aniões. E portanto, para isso é preciso saber:

1. a área específica da resina
2. para depois calcular qual é a volumetria de água da torneira que se pode fazer passar sem ocorrer uma saturação da resina.

Classificação Geral	Fases móvel/estacionária	Tipo de Equilíbrio
Cromatografia Líquida	Líquido-líquido Líquido- fase ligada Líquido-sólido Líquido- sólido Líquido-sólido	Partição entre líquidos imiscíveis Partição entre líquidos e fases ligadas Adsorção Troca iónica Exclusão iónica
Cromatografia gasosa	Gás- líquido Gás- fase ligada Gás -sólido	Partição entre gás e líquido Partição entre gás e fase ligada Adsorção
Cromatografia de fluido supercrítico	Fluido S.C - sólido	Partição

Quem fala de um exemplo prático desses, também pode referir por exemplo **o da cromatografia**.

A cromatografia, na maioria das vezes, definida por cromatografia líquida utiliza como suporte, como fase estacionária um sólido e depois de injectado uma determinada quantidade de solução promove a separação por diversos mecanismos, mas deve-se ter a

noção que a coluna deve ter 1m, 2m ou 1cm para poder suportar a adsorção desses compostos que estão amostra de forma a permitir a sua separação.

Portanto, pode-se antecipadamente, consultar um catálogo de colunas cromatográficas e uma das características que vem referenciada para o material que constitui a coluna, é efectivamente o seu poder adsorvente.

Naturalmente que como qualquer cálculo deste tipo há **limitações à sua determinação**:

Limitações no cálculo da superfície activa

- ☒ solvatação do adsorvato
- ☒ não existência de uma saturação quantitativa da superfície sólida

É impensável que uma molécula de soluto seja por si só adsorvida. Naturalmente que ela está, em maior ou menor extensão, isto é, traz com ela um conjunto de moléculas de água e quando vai ser adsorvida, vai naturalmente ser adsorvida parte do soluto e parte do solvente. Portanto, o valor a recolher da adsorção do sólido é um valor mais ou menos aparente. Não diz respeito exclusivamente ao soluto mas sim a um misto do soluto e do solvente.

Por muito que se queira, nunca se consegue promover uma saturação completa de um solvente. Não esquecer que enquanto que, no caso de ter uma superfície de um sólido/líquido, as forças de ligação gás-gás eram tão fracas que a distância média das partículas era tão grande que haveria pouca probabilidade de interagirem umas com as outras, no caso de um soluto, isso não acontece. Portanto,

quando duas moléculas estão muito próximas geralmente vão competir as duas para o mesmo local activo e muitas vezes o que acontece é que quando as duas querem o mesmo lugar nenhuma o ocupa e como tal, ficam buracos à superfície do adsorvente, visto que não se conseguem ligar naturalmente ao local. Claro está que toda esta determinação se faz com soluções muito diluídas e sobretudo, com a força iónica das soluções ajustadas.

Sabe-se que os iões que existem em solução têm uma determinada actividade iónica. Quando existe um ião e logo imediatamente a seguir outro e outro e outro, isto é, quando a força dos iões, a força iónica da solução é muito elevada, o que vai acontecer o que já foi referido, eles nem que queiram inverter as suas funções, não conseguem porque têm um conjunto de nuvens electrónicas à volta que impede actuarem como..

Então o que é que é normal fazer?

Para deixar que um ião se separe doutro e ele próprio possa ter a sua actividade iónica, utiliza-se aquilo a que se chamam ajustadores de força iónica. São electrólitos, normalmente concentrados e normalmente muito dissociados **que vão fazer o quê?**

Exemplo:

Um cálcio fica rodeado de iões negativos de um electrólito, por exemplo cloreto de sódio, vai ficar rodeado de cloreto e naturalmente já não tem tendência a “imbicar”, com outro cálcio que possa estar em solução. Portanto, há força iónica ajustada, isto é, adicionando electrólito de forma a que o ião inverta a sua própria actividade iónica.

Onde tem lugar a adsorção de líquidos em sólidos?

Exemplo da prof.1

Primeiro o tratamento do vidro com compostos de silicone. É certo que o vidro, sendo constituído por radicais SiOH, portanto silício, tem tendencia, como é uma substância extremamente polar, a adsorver substâncias polares.

Onde intervém a adsorção ?

- ☒ tratamento do vidro com compostos de silicone
- ☒ utilização de frascos de plástico no acondicionamento de reagentes
- ☒ processos separativos por utilização de filtros de nitrocelulose
- ☒ pré- concentração por adsorção
- ☒ catálise enzimática
- ☒ síntese macromolecular
- ☒ regulação genética
- ☒ separação analítica

Exemplo da importância da adsorção

Historinha 1: “Há uns anos no laboratório aconteceu uma coisa interessante. Todos os balões volumétricos tinham umas tampas vermelhas e na altura estava-se a fazer um estudo daquelas louças de barro que quando vitrificadas levam cádmio. O cádmio é altamente tóxico e estava-se a fazer um estudo da cedência do cádmio em determinadas situações de gordura, de lavagens... E preparados os padrões, quando se iam a ler as amostras que resultavam da lixiviação dos materiais de barro, dava-se conta que os valores de cádmio eram brutalmente altos.

Toda gente ficou muito admirada pensando que meio mundo estava intoxicado. Só depois é que demos conta que aquelas tampas vermelhas cediam altas concentrações de cádmio, só que não cediam à solução. Tinham uma particularidade. Ficavam todos adsorvidos no balão volumétrico.

Naturalmente que quando o processo de acidificação, porque o cádmio tem de ser medido em condições de pH muito baixas, se introduziam as amostras dentro dos balões, elas iam adquirir para além

do cádmio que existia nelas próprias, ainda iriam adquirir o cádmio que pela dessorção do vidro voltava à solução.”

Há determinadas situações em que o vidro exige tratamento com silicone. O silicone é um material inerte, é um polímero.

Historianha 2: “Um aluno de doutoramento desta casa estava a estudar as aminas biogénicas. As aminas biogénicas têm um papel muito importante. São um dos compostos presentes no vinho que fazem bem à saúde. O aluno já estava a meio da tese de doutoramento, toda a gente e nos livros vinha a dizer que o vinho tinha aminas biogénicas e ele não as encontrava. **O que é que acontecia?**

As aminas ligavam-se fortemente aos grupos OH do vidro e ficavam adsorvidas aí. Quando ia a ler, por técnicas extremamente extensivas, dava a conta que não havia nenhuma amina biogénica, porque estavam todas agarradas ao vidro. Isto, embora possa parecer que não tem importância nenhuma, fez com que fosse feito um alerta aos produtores de vinho, que começaram a fazer tratamentos especiais às garrafas antes de colocar o vinho lá exactamente para proteger as aminas que ficavam lá agarradas e provavelmente outras coisas que pudessem ser pesquisadas. Por isso muitas vezes, vocês notam que há determinados reagentes específicos que não são guardados em recipientes de vidro. A utilização de frascos de plástico para o seu acondicionamento é perfeitamente justificada.”

Os processos separativos com filtros de microcelulose também são um exemplo típico de ocorrência de adsorção. Muitas proteínas ficam adsorvidas aos filtros de microcelulose e no momento em que há uma caracterização das mesmas elas escapam ao indivíduo que está a fazer os testes de calibração exactamente por ficarem retidas nesses filtros.

Uma técnica que utiliza a adsorção em termos analíticos é a **pré-concentração por adsorção**. Qualquer processo de detecção, sejam físicos ou químicos têm um determinado limite de detecção, a partir do qual é impossível medir alguma coisa.

Exemplo: Por isso é que os atletas andam sempre a ludibriar toda a gente, porque arranjam drogas para os fazer saltar mais ou correr mais rapidamente e que não sejam tão facilmente detectáveis pelos processos analíticos que existem.

Claro que atrás deles, vão os investigadores desenvolver um processo analítico para poderem detectar essas drogas. Muitas vezes o que acontece, quando se quer determinar um determinado parâmetro químico, ele existe em tão baixa quantidade que o sistema de detecção que nós possuímos não tem possibilidade de o detectar.

Das duas uma:

1. ou deitamos aquele sistema de detecção fora e compramos uma coisa que muitas vezes custa milhares de contos mas também tem as suas limitações em termos de utilização
2. ou então fazemos o que se chama uma pré-concentração da amostra.

Fazer uma pré-concentração da amostra

É usar um sólido em pó com determinadas características das quais nós sabemos qual é o poder adsorvente desse sólido e fazer passar um volume da amostra durante um determinado tempo, para ficar retido o parâmetro analítico que pretendemos analisar e depois por processos de eluição sai todo aquele

analito, mas de uma forma concentrada que já poderá ser detectada pelo sistema de detecção que nós possuímos. No laboratório analítico, o que mais se destaca da adsorção são as técnicas quer analíticas de separação, quer preparativas de separação.

Das técnicas de adsorção de laboratório, a que mais se destaca é a cromatografia. Na cromatografia, basicamente, o fundamento é que várias moléculas são adsorvidas a tempos diferentes, exactamente porque as afinidades para o adsorvente são diferentes conforme o tipo de ligação que se vai estabelecer. Há ligações mais fortes entre o analito e o adsorvente e depois de definidas as condições quer de pH, quer de força iónica, quer de qualidade solvente, quer de temperatura, então é possível estabelecer um equilíbrio dinâmico a tempos diferentes de forma a que haja uma separação quer qualitativa, quer quantitativa das espécies que constituem a solução.

Adsorção no laboratório

- ☒ técnicas analíticas de separação
- ☒ técnicas preparativas de separação

Cromatografia, o que é?

Técnica na qual várias moléculas são adsorvidas por um adsorvente, sob condições definidas de pH, força iónica, solvente, temperatura, etc, até que se estabeleça um equilíbrio entre a quantidade de adsorvato à superfície e a sua concentração no interior da fase.

Na **cromatografia** ou nas técnicas de separação há **duas fases** que estão envolvidas.

1. Há uma fase de adsorção
2. outra que implica naturalmente uma eluição ou dessorção do analito.

A fase de adsorção ocorre na aquilo a que se chama a parte estacionária, que é o adsorvente, que pode ser um sólido, um líquido, a única coisa que ele tem é de ser imiscível com a parte móvel, ou seja, com o líquido que transporta o analito e que constituirá o adsorvato. (quadro de classificação de cromatografias) São todas cromatografias de adsorção, isto é, há sempre um processo de adsorção envolvido.

Quais as etapas envolvidas?

- ☒ adsorção
- ☒ dessorção (eluição)

Quantas fases necessita a cromatografia?

☒ **fase estacionária** (adsorvente) - líquido ou um sólido imiscível na fase móvel fixado numa coluna ou numa placa.

☒ **fase móvel** (adsorvato) - um gás, um líquido ou um fluido supercrítico no qual a amostra é dissolvida

Mas para além do processo de adsorção há outro processo que se junta à adsorção. Num slide anterior, há:

- um processo de aproximação,
- logo a seguir um processo de penetração
- e só depois um processo de adsorção com formação de monocamada.

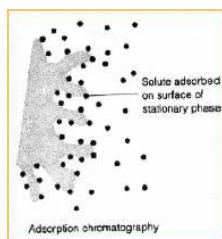
Portanto, em todas essas cromatografias é isso que acontece, há sempre processos de adsorção envolvidos, mas para além disso há outros mecanismos que muitas vezes se sobrepõem ao processo de adsorção.

CROMATOGRAFIA DE ADSORÇÃO

É a mais vulgar;

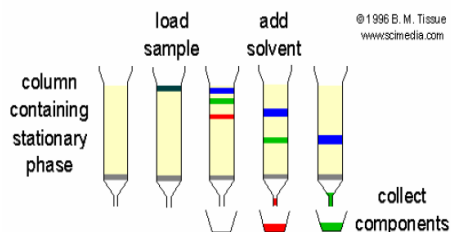
Como funciona...

Pega-se numa plaquinha com sílica, com um estilete aplicaram uma amostra e depois põe-se esta placa a desenvolver num solvente apropriado. Naturalmente que, a substância tem uma determinada afinidade para a sílica, o analito tem uma determinada afinidade para a sílica, mas também terá alguma afinidade para o solvente que promove a subida do analito. E de acordo com essa afinidade as substâncias só migram até determinado ponto, outras sobem mais.



Na cromatografia de adsorção

☑ o adsorvente ou fase estacionária encontra-se, geralmente saturado e perde a sua eficácia sempre que uma camada monomolecular, das substâncias a separar, recobre toda a sua superfície. Separação baseada principalmente nas diferenças entre as afinidades de adsorção dos componentes da amostra para a superfície do adsorvente sólido



Naturalmente que essas barras de separação podem ser utilizadas para identificação dos compostos que estão em solução.

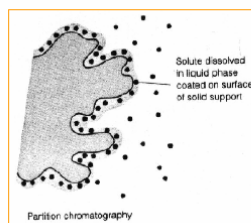
Logo a seguir o processo está aqui indicado, portanto há uma coluna com material de enchimento. Isto pode ser feito em coluna mas também pode ser feito em placa. A amostra é colocada no cimo desta coluna e naturalmente de acordo com as afinidades relativas vai haver separação das substâncias, que vão saindo a tempos diferentes da coluna e serão naturalmente quantificadas e qualificadas.

CROMATOGRAFIA DE PARTIÇÃO

Para além de haver uma adsorção, há efectivamente um equilíbrio que depende, quer da concentração da substância na parte móvel a separar, quer da concentração substância na parte estacionária. E isto é ditado pelas características de polaridade, não só do solvente, mas também da solução.

Um **sensor potenciométrico** é um instrumento analítico constituído por uma membrana dita sensora que não sabe qual é o ião cálcio nem o nitrato, nem a dopamina, etc... mas trata das suas características físico-químicas, e essas carecterísticas são planeadas pela pessoa que controla os sensores.

De acordo com essas características, o que vai fazer é estabelecer uma ligação com os iões que existem em solução. Ora esses iões vão ficar ligados a uma espécie química que existe na membrana chamado sensor iónico, vão ter uma determinada afinidade para esse sensor iónico mas também vão ter afinidade para a solução onde estão contidos. E é exactamente este equilíbrio, esta partilha do ião entre a membrana e a solução que vai ditar a maior ou menor capacidade de detecção. E por isso mesmo é que



Na cromatografia de partição

☑ a eficiência depende teoricamente do coeficiente de partilha de acordo com:

$$\frac{C_1}{C_2} = \alpha = \text{const.}$$

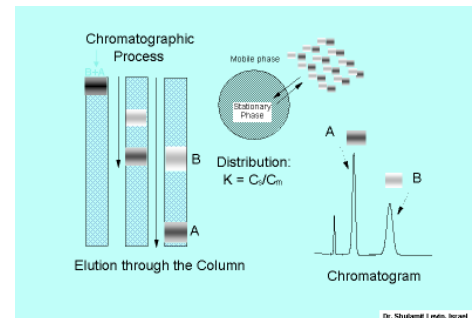
C_1 = conc. subst. separar, na fase móvel

C_2 = conc. subst. separar, na fase estacionária

Separação baseada na diferença de solubilidade dos componentes da amostra, na fase estacionária (cromatografia gasosa), ou nas diferenças entre as solubilidade dos componentes da amostra na fases móvel e estacionária (cromatografia líquida)

não há coisas super-selectivas, não há processos de detecção específicos, o que há é processos de detecção mais ou menos selectivos e então um método analítico deste tipo com certeza, tanto pode ler um nitrato como pode ler um cloreto, como pode ler um sulfato. Agora, vai ler mais um cloreto relativamente ao nitrato e ao sulfato se o coeficiente de partilha lhe for favorável para ser adsorvido.

Aqui está na cromatografia de partição como é que tecnicamente se processa. Naturalmente que acoplada à coluna onde se dá a separação há um sistema de detecção que de acordo com a concentração e de acordo com a leitura da banda de separação vai dar origem a um pico, pico esse que é proporcional à concentração do ião. Naturalmente que o tempo que demora desde a aplicação da amostra e a saída da amostra nos dá indicação da maior ou menor facilidade que esse ião tem para se soltar da fase estacionária. E os iões que ficam demasiado agarrados à fase estacionária, isto é, que o tempo de partilha é favorável à fase estacionária, vão ficar retidos mais tempo e é esse tempo de retenção que nos permite fazer a caracterização das substâncias.



Os parâmetros cromatográficos mais característicos são:

- **o factor de retenção;**
- **o volume de retenção**, isto é, a quantidade de eluente que eu tenho de deitar para fazer sair aquela banda;
- **o tempo de retenção.**

Parâmetros cromatográficos

- ☒ factor de retenção (R_f)
- ☒ volume de retenção
- ☒ tempo de retenção

Os adsorventes há vários e as únicas características que eu gostaria de destacar é que têm de ter grão fino (quanto maior for a superfície, maior será a adsorção), naturalmente que não podem ser solúveis na solução a analisar, não podem reagir e têm que ter um grande poder adsorvente, ou seja, uma grande aptidão para promover a adsorção. (tipos de adsorventes)

Adsorventes

- ☒ ter grão fino (1-10 μ)
- ☒ ser insolúvel no solvente a utilizar
- ☒ não reagir com as substâncias a separar
- ☒ possuir grande actividade (poder adsorvente)

MATERIAIS ADSORVENTES MAIS COMUNS

- Carvão activado
- Alumina activada
- Gel de Sílica
- Resinas naturais (zeólitos)
- Adsorventes polares e não polares

Destes todos, as resinas naturais estão a cair em desuso, sendo por isso substituídas pelas sintéticas.

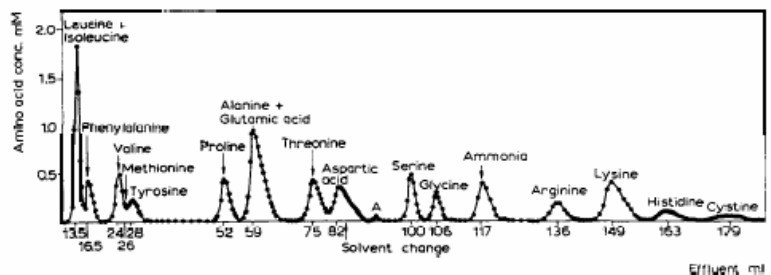


Fig. 1. Separation of a mixture of amino-acids on a starch chromatogram, as shown by analysis of the effluent. (S. Moore and W. H. Stein, *J. Biol. Chem.*, 178 (1949) 53.)

Aqui está o exemplo típico de um cromatograma em que se processa a separação de aminoácidos e onde vocês vêem que a tempos diferentes vão saindo os diferentes aminoácidos e de acordo com a concentração deles na solução os picos se tornam mais ou menos altos.

A cromatografia de troca iónica é muito parecida com a cromatografia de adsorção só que com uma pequena particularidade.

Na troca iónica:

- Parte estacionária: uma resina
- Parte móvel: uma solução aquosa a diferentes pH's.

Nas outras cromatografias (ou será só na adsorção?).

- Parte móvel: solventes orgânicos onde se joga com a polaridade dos solventes.

O processo que está envolvido na separação dos iões são ligações electrostáticas que se estabelecem entre o analito e a resina e de acordo com a força dessas forças assim o analito poderá estar mais ou menos ligado. Dentro da cromatografia de troca iónica há várias terminologias.

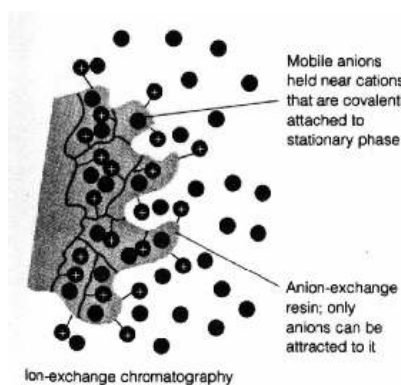
CROMATOGRAFIA DE PERMUTA IÓNICA (15.11)

Processo de purificação (passagem da solução por resinas onde se dá a troca dos iões por outros, por exemplo $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{Na}^+$).

A cromatografia de permuta iónica é efectivamente utilizada como técnica de separação.

Existem várias técnicas analíticas separativas e entre elas destacam-se as cromatografias. Dentro das cromatografias destacam-se as de permuta iónica ou de troca iónica.

A grande diferença que existe entre cromatografia de permuta iónica e a cromatografia de adsorção é a seguinte: a fase estacionária é uma fase sólida que contém aniões ou catiões, e que, embora estejam covalentemente ligados a uma fase estacionária que é habitualmente uma resina, podem trocar iões de carga oposta que se encontram em suspensão.



Usa uma resina (fase sólida estacionária) que possui aniões ou catiões covalentemente ligados a ela.

Os iões em solução de carga oposta e presentes na fase móvel, são atraídos pela resina através de forças electrostáticas.

Naturalmente que a ligação desses iões que estão em solução mais a resina, se faz através de forças mais fracas do que forças electrostáticas e permite que após a adsorção e por um determinado tempo, eles sejam removidos, se entretanto no eluente existirem outros iões cuja afinidade para a resina seja maior do que a afinidade que os próprios iões ligados já

- **Permuta iónica** – envolve a separação de um tipo de ião num composto, noutro (Ex. permuta de Ca^{2+} , Fe^{2+} em Na^+ na água)
- **Cromatografia de permuta iónica** – envolve a permuta sequencial e eluição de iões através de uma coluna. A retenção é baseada na atracção entre os iões do soluto e as cargas superficiais da fase estacionária
- **Cromatografia iónica** – o mesmo que na cromatografia de permuta iónica mas com processo de detecção incluído

possuem.

Existem várias classificações para a cromatografia de troca iónica. O fenómeno em si é um fenómeno de permuta. Poderá também ser designado por cromatografia de permuta iónica ou simplesmente cromatografia iónica.

No fundo a base é a mesma embora hajam designações diferentes e como vos disse, a retenção das moléculas de soluto com as bases “quaternárias” através de cargas superficiais.

MECANISMO DE TROCA IÓNICA

Ex.: A coluna tem uma resina que pode ser de dois tipos. Pode ser uma resina catiónica ou uma resina aniónica. Normalmente as resinas são polímeros elevados que têm radical comprido, que é extremamente insolúvel e na ponta têm o chamado ião volátil, um ião que é móvel que facilmente se destaca daquela ligação e em troca doutro mais sedutor que passe ao lado ele permuta.

Então é o que aqui está representado neste esquema. Imaginem que eu tenho uma resina sódica, portanto tenho o corpo da resina que é o tal polímero e na ponta tenho um ião de sódio que está ali ligado numa ligação mais ou menos fraca, numa ligação electrostática e ele não resiste à passagem de um H^+ . Quando o H^+ passa o que vai acontecer é, porque a ligação do H^+ ao corpo da resina

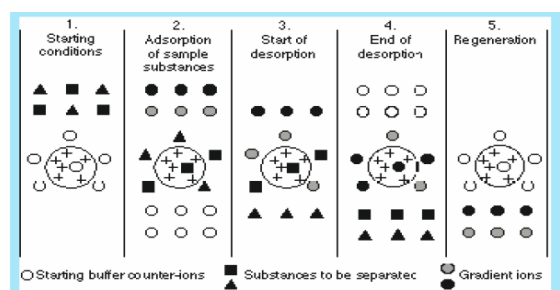
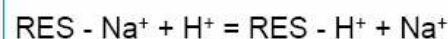
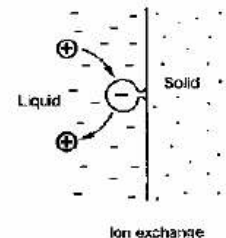
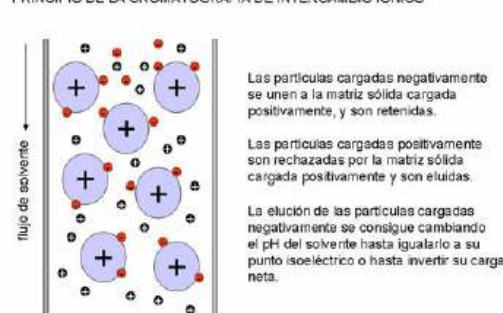
é muito mais forte, logo faz saltar o Na^+ e fica preso o H^+ . O mesmo acontece com a resina aniónica.

Portanto a resina é constituída por um radical polimérico que aqui está representado por resinas e que tem ligado um ião, neste caso o sódio ou outro qualquer. A presença de um ião naquele local, que neste caso é o H^+ , estabelece-se um equilíbrio de troca em que H^+ vai ficar retido temporariamente à superfície da resina, libertando-se para o meio o catião sódio. Este processo ocorre a tempos diferentes conforme a maior extensão de ligação do ião à resina.

É esse um dos processos que é muito utilizado na purificação de águas com concentrações elevadas de NO_3^- que são os percussores das nitrosaminas. Isto é bastante utilizado em Inglaterra, devido aos altos níveis de nitrato nas suas águas.

Exactamente porque a resina tem muitos grupos carregados e portanto ligados à fase estacionária, permite uma permuta em grande extensão de vários iões e a permuta pode facilitar a preparação quer de aniões quer de catiões, de acordo com o ciclo de permutador que pode ser catiónico ou aniónico.

PRINCIPIO DE LA CROMATOGRÁFIA DE INTERCAMBIO IÓNICO



CARACTERÍSTICAS DE CROMATOGRAFIA DE PERMUTA IÓNICA

Uma característica deste tipo de cromatografia é a fase estacionária que é sólida e inerte, e habitualmente o eluente (fase móvel) ser constituído (não por um solvente orgânico como nos casos doutras cromatografias em que a separação se baseia não só na adsorção mas também num coeficiente de partilha entre um ião, um eluente e um ião da fase estacionária) por um tampão que contém iões que podem ter mais ou menos afinidade com a resina do que aquele que está temporariamente ligado.

Diferentes tipos de resinas permutadoras usadas

Existem várias fases estacionárias normais:

- Partículas porosas poliméricas (formadas por co-polymerização do estireno-divinilbenzeno)
- Partículas peculiarmente e superficialmente porosas (formadas por recobrimento de uma resina permutadora num núcleo impenetrável)
- Partículas totalmente microporosas com fases ligadas

As de eólitos que são produtos naturais que durante muito tempo fizeram parte da constituição das resinas de troca iónica, eram muito utilizadas. Hoje em dia, as fases estacionárias mais habituais resultam da co-polymerização do divinilbenzeno com o poliestireno dando um polímero que tem uma cadeia mais ou menos intrincada. Essa cadeia de acordo com a reticulação que lhe é dada, e essa reticulação advém-lhe do grau de polymerização da própria resina, confere mais ou menos selectividade ao processo de separação.

O tipo de permutadores habitualmente utilizados são aqui referidos co-polímeros, estirenos e divinilbenzenos, são os que têm maior expressão em termo de utilização de cromatografia iónica. No entanto, também podem ser constituídas por partículas microporosas com fases ligadas ou permutadores iónicos orgânicos.

Classificação das resinas

É importante saber que existem dois tipos de permutadores: catiónicos e aniónicos.

- Os aniónicos contendo grupos carregados negativamente.
- Os catiónicos contendo grupos carregados positivamente.

(NOTA!- nos acetatos da professora está mal)

- Como fortemente ou fracamente ácidas
 - Permutador catiónico fortemente ácido, ex: RSO_3^-
 - Permutador catiónico fracamente ácido, ex: RCO_2^-
 - Permutador aniónico fortemente básico, ex: RNR'_3^+
 - Permutador aniónico fracamente básico, ex: $\text{RNR}_2'\text{H}^+$

As resinas de permutador catiónico fortemente ácido (ex: RSO_3^-) permitem a separação a todos os valores de pH. Aqui o controlo é feito basicamente pelo pH, ou seja, pela concentração hidrogeniónica do tampão que é utilizada no eluente.

Como permutador fracamente ácido temos o RCO_2^- , esse já só permitem separação quando os pH são superiores aos valores de pK da substância a determinar.

No caso de se tratarem de permutadores aniônicos também eles poderão ser fortemente básicos e também têm a vantagem de poderem ser utilizados num reino completo de pH, ou então fracamente básico que permutam só a valores de pH inferiores ao valor de pKa.

EQUILÍBRIO DE DONNAN

O equilíbrio que se dá numa resina, se considerarmos um permutador catiónico na forma do ião Na^+ (catião sódio), e se quisermos passar uma solução envolvendo iões Li^+ , o que vai acontecer é que o sódio vai permutar temporariamente com o lítio e estabelece-se um equilíbrio cuja constante de equilíbrio no fundo determina o coeficiente de selectividade da própria resina, isto é, diz-nos qual a capacidade que a resina tem de fixar o lítio em substituição do sódio, em maior ou menor extensão do que a fixação do sódio à própria resina. Este equilíbrio dá-se quando as concentrações dos iões no eluente são superiores à concentração do ião na própria resina e determina o chamado equilíbrio de Donnan, que representa o equilíbrio de cargas que existe quer à superfície quer no exterior da resina.

É este equilíbrio que se passa ao nível das nossas células. As trocas de sódio/potássio nas nossas células (que determinam a bomba sódio/potássio que tem implicações no funcionamento cardíaco [ritmo cardíaco, etc.]) estão dependentes de uma permuta iónica que é definida através de um equilíbrio que acaba por determinar a concentração de iões fora das células e no interior. Há formas de alterar este equilíbrio, quer por medicação, quer por outros processos cíclicos.

Exactamente porque a carga interna da resina é considerável, a possibilidade de atraque de iões à resina é favorecida. Se tiver um ambiente iónico sedento de cargas, é mais fácil de captar iões do que de rejeitá-los, e por isso ocorre o tal fenómeno de troca iónica: o equilíbrio de Donnan.

O equilíbrio de Donnan pode ser representado como aqui está indicado:

Se considerarmos um permutador aniónico fortemente básico que está na fórmula de anião Cl^- (isto é, temos um polímero de resina e na ponta temos ligados iões cloreto) e se quisermos passar uma solução de cargas Cl^- , o balanço de cargas que ocorre dentro e fora do permutador, a concentração de R^+ da resina mais a concentração de iões K^+ , tem de ser exactamente igual à concentração de Cl^- no interior da resina, isto porque tem de haver electroneutralidade e só assim se entende que as cargas positivas no interior da resina se igualam às cargas negativas. No exterior da resina também tem de haver electroneutralidade, está a passar KCl, então a concentração fora da resina de K^+ é igual à de Cl^- .

- Refere-se ao equilíbrio entre os iões no interior da fase líquida e os iões no interior da fase sólida (resina)
- Para uma resina aniónica R^+ e a sua forma clorídrica Cl^- , imersa numa solução de KCl
- $[\text{K}^+]_{\text{int}} [\text{Cl}^-]_{\text{int}} = [\text{K}^+]_{\text{ext}} [\text{Cl}^-]_{\text{ext}}$ (1)
- No interior da resina $[\text{R}^+]_{\text{int}} + [\text{K}^+]_{\text{int}} = [\text{Cl}^-]_{\text{int}}$ (2)
- Como $[\text{K}^+]_{\text{ext}} = [\text{Cl}^-]_{\text{ext}}$ segundo o balanço de cargas, então a equação 1 vem:
- $[\text{K}^+]_{\text{int}} ([\text{R}^+]_{\text{int}} + [\text{K}^+]_{\text{int}}) = [\text{K}^+]_{\text{ext}}^2$
- Por isso: $[\text{K}^+]_{\text{ext}} > [\text{K}^+]_{\text{int}}$

O produto iónico dentro e fora da resina é dado pelo produto das concentrações dos iões quer do interior quer do exterior.

Se combinarmos as duas equações vamos chegar a uma equação final onde se conclui que a concentração de K^+ fora da resina tem de ser maior que a concentração no interior. Isto vai contra aquilo que foi visto acima, que a concentração de iões num ambiente iónico exterior tem de ser sempre superior à concentração de iões no interior da resina. Quer dizer então que a troca se faz por balanço de cargas, ou seja, por um balanço de massas.

Se eu passar uma solução diluída frente a uma concentrada, é muito mais provável que a concentrada troque os seus iões que a diluída, mesmo que os iões da diluída tenham mais afinidade para a resina do que os da concentrada.

SELECTIVIDADE E RETENÇÃO

- pH da fase móvel
 - Concentração total e tipo de espécies iónicas na fase móvel
 - Adição de solventes orgânicos ao eluente
 - Temperatura da coluna
- Afectada pelo tamanho e carga do ião solvatado
 - 1. Os permutadores iónicos ligam-se fortemente a iões com cargas elevadas, com baixo raio de hidratação e elevada polarizabilidade
 - 2. Por isso a ordem de selectividade é geralmente:

$Pu^{4+} \gg La^{3+} > Ce^{3+} > Pr^{3+} > Eu^{3+} > Y^{3+} > Sc^{3+}$
 $> Al^{3+} \gg Ba^{2+} > Pb^{2+} > Sr^{2+} > Ca^{2+} > Ni^{2+} >$
 $Cd^{2+} > Cu^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+} > Mg^{2+} > UO_2^{2+}$
 $\gg Ti^+ > Ag^+ > Rb^+ > K^+ > NH_4^+ > Na^+ > H^+ >$
 Li^+

A ordem de permuta (ou sequência de permuta), está dependente não só da quantidade mas também é definida por um parâmetro que defende o potencial iónico. Potencial iónico é o potencial de cargas iónicas que existem no interior e exterior. É definido como carga do ião/raio do ião.

Um ião de carga elevada tem muito mais probabilidades, do que um ião de carga pequena, de chegar à resina e estabelecer uma ligação. No entanto, não basta isso. Se o ião for de carga elevada mas tiver um raio grande, vai demorar mais tempo a chegar à resina, e a sua troca será dificultada frente a outro ião que tenha maior carga mas um raio iónico menor. Esse vai migrar muito mais facilmente e vai competir com o outro, mas, porque chega mais depressa, liga-se mais rapidamente.

Quanto maior for o potencial iónico, mais firme é a ligação do ião ao permutador. Significa isto que, iões com elevada carga, promovem extensões de permuta muito maiores que os de menor carga e, naturalmente, os substituem. No entanto, tudo isto é relativo pois depende inclusivamente da concentração do ambiente externo da resina.

Então, a reprodutividade dos permutadores catiónicos é por consequente muito maior que a dos aniónicos.

Os efeitos de concentração podem alterar essa ordem de previsão de separação. Significa que, quando estamos a fazer cromatografia iónica, podemos escolher como eluente iões que tenham menor carga do que o ião que está a ser preparado, para facilitar a ligação do ião a ser preparado. Mas, quando quisermos retirá-lo, só temos que substituir o eluente por um ião de maior carga que naturalmente vai concorrer com a resina muito mais facilmente, libertando o outro e deixando que ele elua.

Por essa razão, em função do potencial iónico, a sequência de selectividade que é normal acontecer para os diferentes iões, é a que se encontra acima representada.

Por exemplo, o Ce^{3+} é muito mais facilmente ligado que o Li^+ , e o Li^+ muito menos ligado que o Zn^{2+} , devido às suas cargas.

A cromatografia ou separação por permuta é ainda alterada por outros factores como o pH da fase inicial, a concentração do sal e o tipo de espécies iónicas na fase móvel, a adição de solventes orgânicos ao eluente e a temperatura da coluna. A adição de solventes orgânicos ao eluente que pode ter de acontecer eventualmente, vai fazer com que os solventes orgânicos modifiquem a polaridade no meio e assim vão modificar a polarizabilidade do ião. Ao acontecer isso, vão fazer com que ele possa estar em estados de oxidação diferentes.

Aumentando a temperatura, aumenta a energia cinética dos iões e, por um lado, está-se a favorecer a sua migração à resina, a sua ligação. Mas se a temperatura for demasiado elevada, acontece exactamente ao contrário porque aquela agitação vai contradizer a absorção que tem de ocorrer ao nível da resina.

ORDEM DE ELUIÇÃO

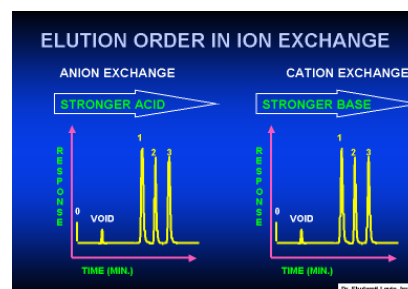
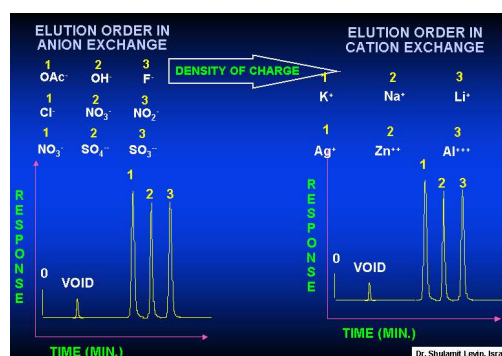
Tudo o que foi visto anteriormente pode ser traduzido nesta imagem em que se pode ver que a ordem de eluição neste caso, tratando-se de um permutador aniónico, o Cl^- é o que fica mais tempo retido na coluna, significa que a ligação com o permutador é muito mais forte do que por exemplo, o ácido acético.

No caso de se tratar, por exemplo, de um nitrato em relação ao cloreto, reparem que o nitrato fica muito mais tempo que em relação ao cloreto. A densidade, embora a carga seja a mesma, aqui não é um problema, o potencial iónico é uma relação que obriga à selectividade, é uma relação entre a carga e o raio iónico. Muito embora a carga seja a mesma, o que acontece é que o raio do cloreto é consideravelmente maior que o OH. Significa que a sua retenção é enorme, maior durante um certo tempo. Com o nitrato acontece a mesma coisa. A densidade de carga varia neste mesmo sentido. Tratando-se de uma resina catiónica, o processo é exactamente o mesmo.

Para além do tempo que o ião fica retido e que é dado por este tempo de retenção, em função do volume morto da coluna, é possível aproveitar esta retenção para a quantificação do ião.

Significa que a altura destes picos que aparecem, são proporcionais à concentração do ião que fica retido logo lmente vai sendo eluído com o eluente.

Em função da força do ácido, isto é, em função do valor de pK do ácido, para uma resina de troca aniónica, quanto mais forte for o ácido (maior o seu pK), mais tempo fica retido. Então, para se poder eliminar este ácido que está retido há um tempo bastante elevado em relação a este, só se tem de passar um eluente ainda mais forte do que o próprio ácido. No caso das bases, se são bases que o permutador tem de ser catiónico, também a força da base determina o tempo de eluição.



APLICAÇÕES PRÁTICAS

Um bom exemplo de permuta iônica é aquele que pode ser usado na refinação do açúcar, na separação de moléculas biológicas, na desmineralização da água, na eliminação do Ca^{2+} e Mg^{2+} (sobretudo em águas do sul em que são águas duras, e do norte em que são águas moles, têm muito cálcio e magnésio), dessalinização da água, remoção de metais pesados (o que é extremamente vulgar em termos ambientais). Não é preciso comprar nenhuma resina para remover esses metais. Há substâncias naturais que os removem. Por isso, as praias que têm coqueiros são normalmente muito boas ambientalmente porque as folhas de coqueiro removem bem os metais, funcionam como permutadores. Verificou-se que estas folhas têm uma capacidade de remoção dez vezes superior que as resinas sintéticas, bem como aquelas algas que funcionam pelo mesmo processo. São bons descontaminantes ambientais.

Esta permuta é reversível pois eu posso voltar a tirar os iões se escolher um eluente que tenha ou maior densidade de carga, ou seja mais fortemente ácido, ou seja mais carregado. Pode-se fazer sair e permutar de forma reversível o ião que ficou temporariamente lá ligado.

Na pré-concentração de analitos nós usamos muito processo de troca iônica para locais que tenham baixa concentração de determinada espécie e que os processos de detecção não possam detectar.

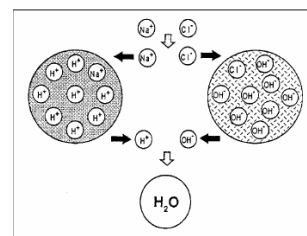
A conversão de um sal noutro sal é normalmente feita através de uma resina de troca iônica. ex: a titulação do ácido acético que é extremamente fraco e quando utilizamos uma base para o titular, o erro da titulação é extremamente elevado. A forma mais normal de o evitar e sabermos qual o tipo, uma vez que a dissociação não é completa do próprio ácido, é fazer passar uma toma por um determinado volume, através de uma resina por hipótese com terminais cloreto, todos os COO^- do ácido são trocados por Cl^- . Para a solução passa cloreto (por exemplo, se fazemos passar uma solução de acetato de sódio, o acetato fica ligado à coluna, sai para o eluente o sódio conjuntamente com o cloreto que estava ligado à coluna, nesta altura o NaCl já pode ser titulado).

O processo mais quotidiano de utilização das colunas de troca iônica, é o processo de desionização da água. A água tem muitos iões (sódios e cloretos têm maior extrusão (?)) então o que faço é passar a água por uma resina fortemente catiónica que tem terminais H^+ e logo a seguir por uma resina aniónica hidroxílica que tem terminais OH^- . Naturalmente, que todos os sódios são trocados por H^+ e os Cl^- por OH^- , resultando numa substância pura.

Para não se ficar com ideia de que a cromatografia por troca iônica só serve para iões, aqui estão exemplos de cromatogramas que são aplicados a outras espécies biológicas:

- ☒ Refinação de açúcar
- ☒ Separações biológicas
- ☒ Desmineralização da água (remoção de Ca^{2+} e Mg^{2+})
- ☒ Dessalinização da água (remoção de Na^+ e Cl^-)
- ☒ Remoção de metais pesados.
- ☒ Tratamento de água residual radioactiva.
- ☒ Pré-concentração de analitos.
- ☒ Conversão de um sal noutro

Processo de desionização da água



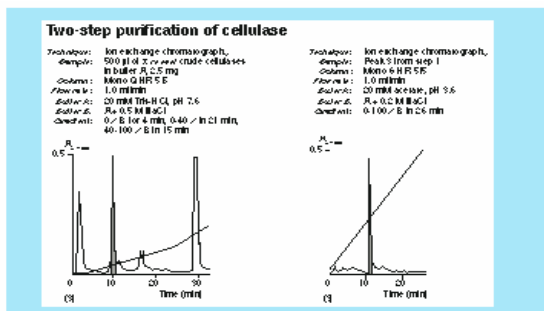


Fig. 7.3. Use of ion exchange in the final purification of cellulase. (Work by Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden.)

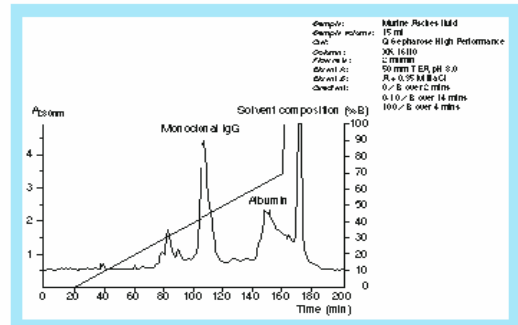


Fig. 7.6. Ion exchange purification of mouse monoclonal IgG from ascites fluid. (Reproduced by kind permission of Dr. LeRoy Baker, Eli Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Indianapolis, USA.)

Há determinados ácidos que, conforme o pH, podem estar ou sob a forma de ácido ou anião, ou eventualmente se forem bases, ou sob a forma de base ou de catião.

Portanto, é possível alterar o pH de uma amostra onde estão contidos esses átomos e outras moléculas neutras e de acordo com a carga, o valor de pK desse ácido, pode-se excluir iões de moléculas que possam estar envolvidos com essas substâncias.

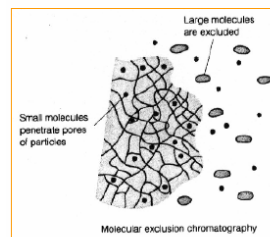
Por exemplo: Quando se tem uma fórmula farmacêutica benzoato (que é uma substância utilizada como conservante nas formulações) com cafeína (é uma molécula neutra), pode-se separá-los se se operar a um pH com valor superior ao pK de ácido benzóico.

No momento em que se trabalha a pH superior a 4.6, o ácido benzóico não está sob a forma de ácido benzóico mas sim de benzoato, que tendo carga, pode ficar retido temporariamente na resina, deixando que a cafeína passe sem haver preocupação nenhuma. Assim, poder-se-á purificar uma amostra de ácido benzóico com cafeína, ou dosear a quantidade de cafeína e também de ácido benzóico que lá exista, variando através do eluente, o pKa da solução.

CROMATOGRAFIA DE PERMEACÃO EM GEL

Um outro tipo de cromatografia também tem como base a adsorção. É a cromatografia chamada de exclusão molecular, permeação em gel ou filtração em gel, que também tem como base a adsorção.

No fundo é uma cromatografia por tamização. O que acontece é que num ambiente biológico, onde grande parte são macromoléculas que podem ter diferentes tamanhos, utilizando uma fase estacionária determinada, podemos separar as moléculas grandes das mais pequenas. De acordo com o seu tamanho, pode-se favorecer a velocidade de eluição de uma delas relativamente a outra.



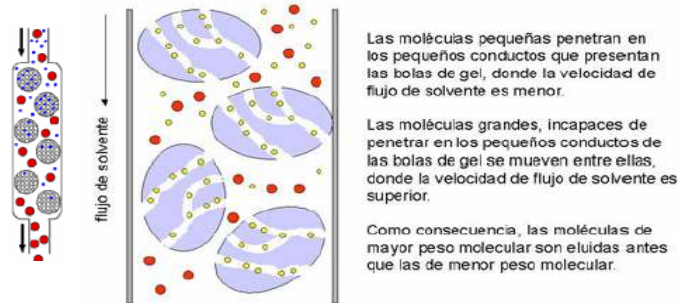
A fase líquida ou a fase gasosa passa através de um gel poroso que separa as moléculas de acordo com o seu tamanho. Os poros são normalmente pequenos e excluem as moléculas de grandes dimensões mas deixa que as moléculas pequenas penetrem no gel e que eluam através dele num volume de eluente grande. Isto faz com que as moléculas grandes passem através da coluna a uma velocidade maior do que as moléculas pequenas.

- **Cromatografia de permeação em gel = Crom. de filtração em gel = Crom. de exclusão molecular = Crom. de tamização molecular = Crom. Permeação em gel Sephadex®**
- Fase estacionária = partículas com tamanho de poro controlado (polissacarídeo chamado dextrano)
- Fase móvel = solução aquosa de tampão

O material utilizado para este tipo de filtração, para este tipo de permeação, para este tipo de cromatografia de exclusão molecular é uma fase estacionária constituída por um polissacarídeo chamado dextrano e utiliza normalmente como fase móvel, uma solução também aquosa e habitualmente um tampão.

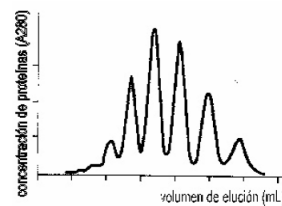
Vai acontecer que aquele material de empacotamento da resina, com aquele polissacarídeo constituído por moléculas com um determinado retículo, vai-se introduzir, encher a coluna com esses polissacarídeos e em cima vai-se deixar uma mistura de moléculas em que umas têm o tamanho grande e outras são mais pequenas. O que vai acontecer é que vai haver um processo de exclusão, um processo de ligação das moléculas inseridas no poro/retículo daquele polissacarídeo e as moléculas grandes que não conseguem entrar nesses poros vão sair intactas e a um tempo mais curto do que sairão as moléculas mais pequenas guardadas naquele retículo. Para saírem vai-se ter de adicionar um eluente que as empurre para elas saírem.

PRINCIPIO DE LA CROMATOGRAFIA DE FILTRACION EN GEL



RESULTADOS ANALÍTICOS

O perfil de saída dessas moléculas pode-se traduzir num estilo cromatograma em que se relaciona o volume de eluição, com a concentração das macromoléculas que existem e, naturalmente, que o volume de eluição vai depender do tamanho da molécula.



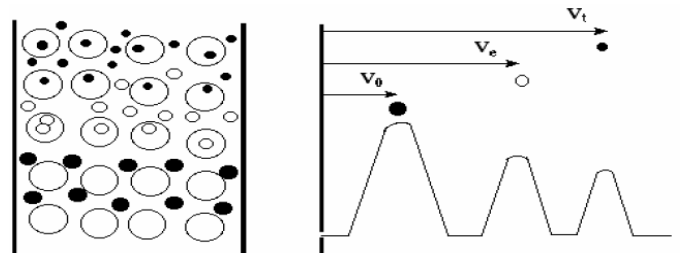
Os resultados exprimem-se sob a forma de um perfil de eluição ou diagrama de eluição, no qual se representa a variação da concentração do eluato (o que sai da coluna) em função do volume da fase móvel que passou através da coluna

PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS

Moléculas que tenham volume de eluição baixos são naturalmente moléculas grandes que saem imediatamente.

As mais pequenas precisam de um maior volume de eluente para sair. O volume de eluição não é o suficiente para caracterizar a preparação dessas moléculas porque depende das características da coluna e sobretudo do tipo de material de enchimento dessa coluna. O volume de eluição é exactamente igual ao da fase móvel, ou seja, o volume morto ou daqueles interstícios que constituem o polissacarídeo mais uma constante vezes o volume da fase estacionária.

Exactamente porque este volume de eluição não é característico só da molécula, mas também depende de outros parâmetros. Então a melhor forma de caracterizar este tipo de eluição é através do



$$V_e = V_0 + K_d V_i$$

$$K_d = (V_e - V_0) / V_i$$

V_i = V. fase estacionária
 V_0 = V. Fase móvel ou v. Morto
 V_e = V. Eluição
 K_d = coeficiente distribuição

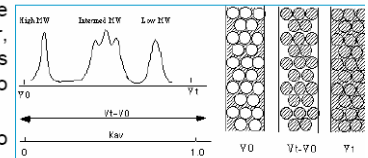
coeficiente de distribuição que é dado nesta expressão que aqui em cima se encontra.

O significado deste coeficiente de distribuição corresponde ao volume da fase estacionária que permite a difusão dos iões.

Como é que para calcular aquele coeficiente de distribuição, (e esse sim pode-se relacionar com a concentração das moléculas), como fazemos para caracterizar todos aqueles parâmetros que lhe estão associados?

Para calcular o volume de solvente necessário para transportar através da coluna as moléculas demasiado grandes, que não entram nos poros, (no fundo corresponde ao volume morto da coluna, ao volume da fase estacionária) usa-se normalmente uma molécula muito grande, dextrano e fazendo passar uma solução de dextrano em determinada concentração, fica-se a saber qual o volume morto da coluna.

- V_0 = volume de solvente necessário para transportar, através da coluna, as moléculas demasiado grandes que não entram nos poros
- V_i = volume da fase móvel no interior dos poros
- K_d = extensão com que a proteína pode penetrar nos poros da fase estacionária (0-1)
- V_i difícil determinar \Rightarrow requer o uso de isótopos radioactivos
- Utiliza-se K_{av} (constante distribuição) em vez de K_d



$$K_{av} = (V_e - V_0) / (V_t - V_0)$$

V_t = volume total da coluna =
volume de permeação total

O volume da fase estacionária no interior dos poros é difícil de calcular. Então vai-se fazer de que forma? Através de isótopos radioactivos.

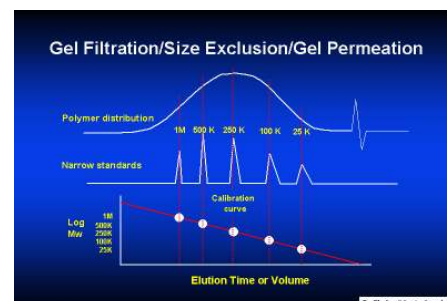
Então, porque é difícil de calcular isto, o que é normal é, em vez de exprimir o volume de eluição e todas as outras características referentes à coluna em função do coeficiente de distribuição médio que relaciona não só o volume de eluição e o morto, como também o volume total da coluna, o volume de permeação do local, e o volume morto.

Portanto, se se souber o $V_e - V_0$ da coluna, se souber o V_t que inclui não só o volume da fase estacionária mas também o $V_i - V_0$, fica-se a saber qual é exactamente o coeficiente de distribuição médio e assim poder-se-á relacioná-lo com a concentração.

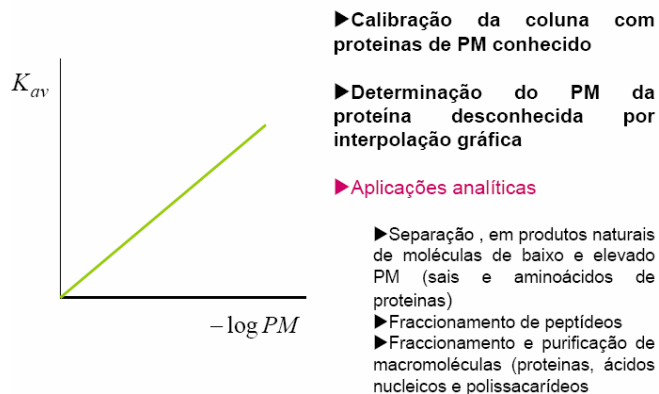
(Isto tem de ser feito para cada cromatografia.)

Para moléculas grandes, o valor vai tender para 0, enquanto que para moléculas pequenas vai tender para 1. Para as moléculas intermédias, o valor K vai ficar entre 0 e 1.

Aqui está representado um cromatograma de uma filtração em gel e como se pode ver, a variação de K médio em função da concentração, tem este perfil. A forma de o poder utilizar analiticamente é então fazer Log K médio em função do volume de eluição e passaremos a ter para cada concentração, um ponto que originará uma recta e permitirá calcular por interpolação gráfica, o valor do tamanho de uma molécula numa amostra definitiva de uma solução de macromoléculas.



Primeiro calibra-se a coluna com proteínas de peso molecular conhecido. Estamos agora a falar de proteínas em vez de macromoléculas porque este é um tipo de cromatografia utilizado para a separação de proteínas dum ambiente proteico, não só para separação mas também para purificação.



Para cada proteína, para cada peso molecular, vai ser determinado o tal valor de K médio. E relaciona-se o -Log PM com o K médio, faço -Log e dava-me uma recta exactamente descendente.

Depois, a determinação do peso molecular de uma proteína desconhecida é feita determinando com uma coluna, o valor de coeficiente de distribuição médio através do $V_e - V_0$ sobre $V_t - V_0$ e depois de saber este valor, só tenho de calcular o anti-logaritmo e daí deduzir o valor do peso molecular da proteína.

CROMATOGRAFIA DE AFINIDADE

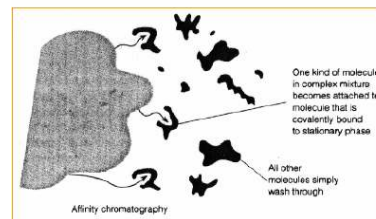
As aplicações analíticas são aqui referidas algumas. Quer a separação das moléculas de baixo e elevado peso molecular em produtos naturais, ou fraccionamento de peptídeos, (o estudo de peptídeos com fracções diferentes e a sua caracterização é feita por este tipo de cromatografia), ou fraccionamento e purificação de macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos ou mesmo polissacarídeos).

É dos tipos de cromatografia mais utilizados em Bioquímica. Um caso particular que referimos e que hoje em dia está muito em voga é a chamada **cromatografia de afinidade**.

Arranja-se uma fase estacionária (normalmente um gel de sílica), absorver na fase estacionária ou uma enzima, ou um anticorpo, ou outro elemento de reconhecimento específico e a passar-se uma solução que tenha um substrato que seja afim para a enzima ou que tenha um antígeno que seja muito afim para o anticorpo, pode separar-se após eluição, selectivamente, substâncias que constituem essa mistura.

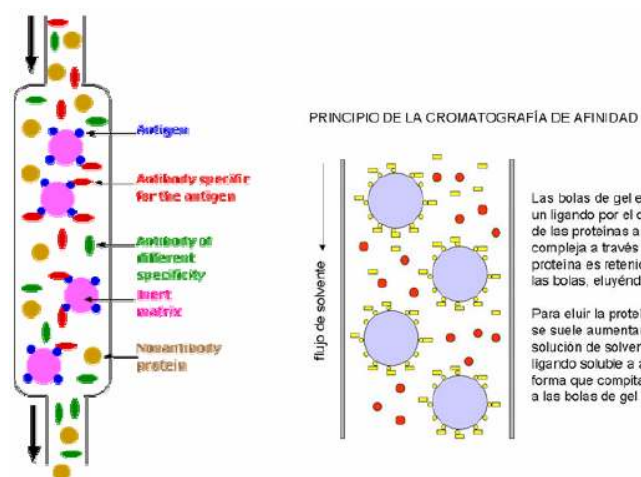
É hoje em dia em termos de genética, a forma mais comum de separar substâncias deste tipo.

O mecanismo de afinidade está aqui representado, consegue através de um

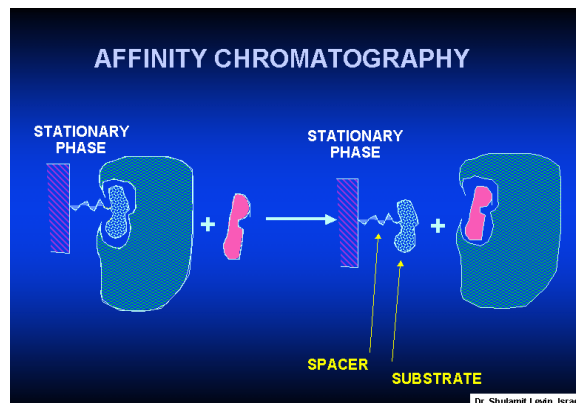


É o tipo de cromatografia mais selectiva. Utiliza a interacção específica entre um determinado tipo de molécula de soluto e uma segunda molécula que é imobilizada na fase estacionária (anticorpo).

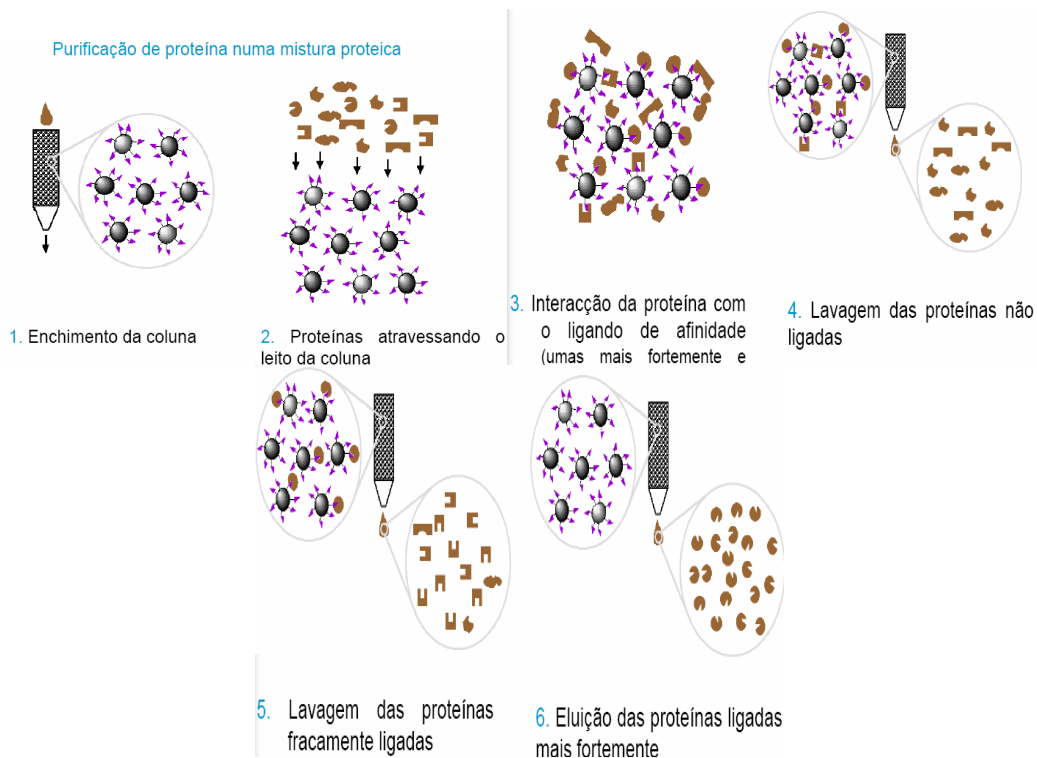
Quando o soluto contém uma mistura de proteínas, só as que são específicas é que reagem com o anticorpo, ligando-se a ele na fase estacionária. Esta proteína é depois extraída variando o pH ou a força iónica do meio.



recobrimento da fase estacionária, consegue-se recobrir ou com uma enzima ou com um polímero e fazendo passar uma solução passa através dessa fase estacionária recoberta consegue-se fazer atracar as espécies afins a esse mesmo recobrimento.

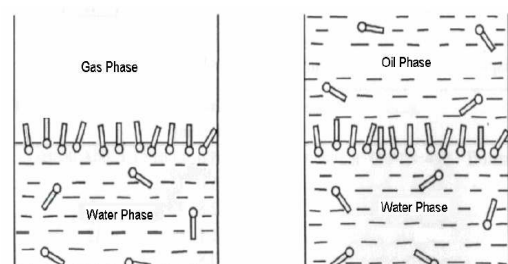


Também é muito utilizada na purificação de proteínas:



ADSORÇÃO NA INTERFACE GÁS-LÍQUIDO E LÍQUIDO-LÍQUIDO: DETERGÊNCIA

Até aqui estudamos a interface sólido/líquido. Um dos fenômenos superficiais que no princípio foi referido e que ocorre em grande extensão nas interfaces líquido-líquido é o fenômeno das detergentes. Temos uma fase líquida em contacto com uma fase gasosa, ou uma fase

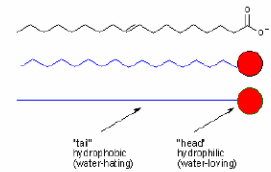
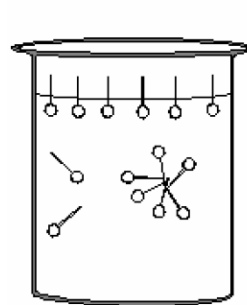


líquida em contacto com uma fase líquida com características de miscibilidade diferentes.

E se se adicionar um determinado tipo de substâncias chamadas agentes tensioactivos vai dar-se conta do seguinte, que esses agentes se localizam na interface seja ela líquido/gás ou líquido/líquido.

Os **agentes tensioactivos** são moléculas que têm uma cadeia hidrocarbonada (e portanto, hipófila) e um grupo funcional hidrófilo. Eles têm umas características especiais porque além de actuarem a baixas concentrações, eles possuem baixa tensão superficial e diminuem a energia livre de Gibbs fazendo com que todo o sistema onde são incluídos, baixe a sua tensão superficial. Em conclusão, são substâncias que fazem baixar a sua tensão superficial.

E exactamente porque eles têm uma parte hidrófila e uma cauda de hidrocarbonetos alifáticos que é lipófila, eles são muito “espertos” e vão colar-se com a parte hidrófila virada para a parte da solução hidrófila e a parte lipófila ligada à parte lipófila.*



Características:

- ☒ actua a baixas concentrações
- ☒ possui baixa tensão superficial
- ☒ diminui a energia livre de Gibbs do sistema

Se não existisse a lexitina dipalmitil nos

nossos pulmões (um agente tensioactivo) nós morríamos. Por isso é que há bebés que nascem com aquela cor cianizada e acabam por não conseguir fazer as trocas de oxigénio ao nível pulmonar.

A lexitina dipalmitil é um agente tensioactivo que se localiza nos alvéolos pulmonares e tem por missão estabelecer um contacto próximo entre o ar que é mais lipófilo e a água que banha as paredes dos alvéolos e aí facilitar a troca de oxigénio.

Portanto, a detergência e os agentes tensioactivos não têm só influência nas espécies artificiais mas também nos processos naturais.

Aqui estão bons exemplos de agentes tensioactivos que são utilizados:

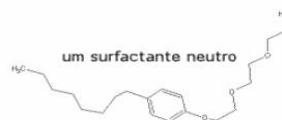
Moléculas neutras, catiónicas e aniónicas e hoje em dia começam a ser um grave problema ambiental. Por isso os detergentes começam a deixar de ser um facto.

A indústria têxtil do Norte está a contaminar com agentes tensioactivos que são utilizados na fase de acabamento dos tecidos, brutalmente, os nossos rios.

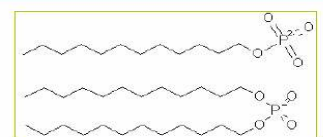
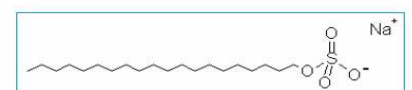
É devido à quantidade de agentes tensioactivos que aconteceram estas desgraças ambientais.

Também nesta área os licenciados farmacêuticos têm papel importante a desempenhar, quer na prevenção (desenho de moléculas que possam fazer as funções que devem fazer nestas indústrias mas sem serem contaminantes a este ponto) ou na quantificação ou detecção dessas substâncias.

1. Neutros



2. Iónicos (a) catiónicos, b) aniónicos e c) anfotéricos)



* Agora entende-se porque OMO lava mais branco, porque sendo um agente tensioactivo, as moléculas dele põem a cauda ligada às nódoas e a cabeça hidrófila ligada à água, promovem o abaixamento da tensão superficial, se a promovem, o ângulo de molhamento torna-se menor e é mais fácil a remoção das nódoas.

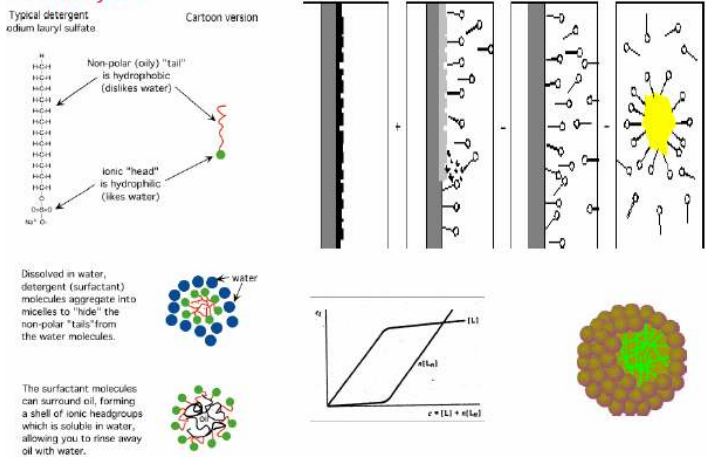
Os mais tóxicos e que hoje em dia estão a ser progressivamente mais usados são os neutros. Não adianta deitar Fairy na banca à molhada por uma razão, porque os agentes tensioactivos actuam até determinada concentração a partir da qual não vale a pena deitar mais porque não adianta.

A detergência é a adsorção de moléculas à superfície de um líquido, quer ele esteja em contacto com um gás, quer esteja em contacto com outro líquido. Essa adsorção é feita com moléculas que têm características muito especiais.

Estas moléculas são chamadas detergentes, agentes anfífilicos, agentes tensioactivos ou agentes tensores visto que têm uma característica especial: possuem uma cadeia hidrocarbonada muito grande que na extremidade tem grupos iónicos (catiónicos, aniónicos). Poderiam ter características mistas dependendo do pH.

Imagine-se uma interfase, um líquido em contacto com um líquido ou então com um gás. Quando se adiciona um agente tensioactivo, que tem uma cauda apolar e uma parte que é extremamente polar, este orienta-se por adsorção em função da polaridade de uma das interfases relativamente à outra. Esta adsorção vai-se dando até um limite, a partir do qual não há possibilidade de a camada superficial desta interfase adsorver mais moléculas deste tipo. Nessa altura, o excesso de tensioactivos que se adiciona, vai formar micelas*, à medida que ocorre adsorção, o número de monómeros adsorvidos na interfase vai aumentando até atingir um limite de saturação que corresponde à formação dessas micelas, isto é, atinge-se aquilo a que se chama a concentração micelar crítica*

Agentes tensioactivos: mecanismo de actuação



Estabelece-se uma ponte entre uma zona de alta polaridade com uma de baixa polaridade, logo tendem a aproximar as moléculas duma fase com outra fazendo baixar a tensão superficial. A adsorção vai aumentando progressivamente, até se atingir um limite de saturação na interfase e depois de se atingir esse limite de saturação começa a ocorrer a formação de micelas e quando ocorre a formação de micelas atinge-se aquilo a que se chama a concentração micelar crítica. A partir dessa altura não há mais possibilidade de solubilização.

NOTA:

Exemplo: No trabalho nº2 utilizou-se um agente tensioactivo a ser adsorvido na interfase líquida, no caso particular é a água. Um engano nos cálculos e uma medição de concentração de butanol superior à necessária, leva a que nos primeiros balões se consiga que haja uma homogeneidade da solução, isto é, a formação de uma só fase. Contudo, nos últimos balões há a diferenciação de fases, isto é, atingida a

* Uma micela é um agregado molecular de monómeros de agentes tensioactivos.

* A partir deste momento, não adianta deitar mais detergente do que aquele que é necessário porque a partir de determinada concentração, nomeadamente a concentração micelar crítica. Já não é possível haver mais adsorção à superfície, na interfase e não havendo adsorção à superfície, as funções do detergente deixam de ser executadas já que esta substância tem como particularidade o fazer diminuir a tensão superficial.

concentração micelar crítica a solução deixa de estar homogênea para passar a estar cheia de aglomerados moleculares que nessa altura formarão a outra fase diferente da fase aquosa.

⇓ Significa então que

se representarmos o que acontece à concentração micelar crítica, não em termos de adsorção mas sim em termos de tensão superficial e se se adicionar monómeros, à medida que o número de monómeros aumenta, a tensão superficial vai descendo exactamente pelas propriedades já referidas. Naturalmente que quando há a saturação da interfase, a tensão superficial atinge um valor mínimo a partir do qual começa a haver estabilização da tensão superficial e começa a ocorrer a formação de micelas.

Lá está, não vale a pena adicionar mais detergente a partir desta concentração porque as funções dele são exactamente fazer diminuir a tensão superficial e deixa de ocorrer a partir desse ponto. É assim que os ácidos gordos são adsorvidos ao nível das células. Temos agentes tensioactivos naturais que vão fazer exactamente o transporte ou facilitam o transporte dessas moléculas que são extremamente hidrofóbicas mas essa adsorção ou esse transporte está limitado pelo valor de concentração de gordura e naturalmente pela formação da concentração micelar crítica. Por essa razão é que, determinadas substâncias em excesso deixam de ser adsorvidas e formam bolcos de gordura em determinadas artérias provocando as doenças cardíacas.

O que resulta do fenómeno de detergência e da adsorção à superfície, há um conjunto de propriedades físicas que alteram bruscamente na zona da concentração micelar crítica. E são muitas vezes essas **propriedades físicas**¹ que são utilizadas para determinar este parâmetro que é de extrema importância sobretudo

↓
condutividade molar

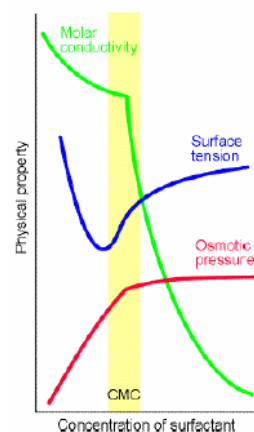
A condutividade molar vai decrescendo e na zona da concentração micelar crítica há um decréscimo brutal. Em solução, quem transporta a electricidade, quem transporta os electrões são os iões.

No momento em que se adiciona monómeros que têm certamente uma carga, têm uma cadeia hidrocarbonada mas têm na ponta uma carga, estas moléculas vão conseguindo ainda transportar electrões. Mas vai havendo uma associação para formar as tais micelas e quando se forma as micelas, elas formam uma molécula toda rodeada, como se não tivesse carga. Logo a condutividade vá decrescendo progressivamente porque os monómeros estão a ser adsorvidos na interfase e quando se atinge a formação das micelas, ou seja, na faixa da concentração micelar crítica, a condutividade eléctrica na solução reduz brutalmente porque já não existem partículas que possam fazer esse transporte de electrões.

pressão osmótica.

A pressão numa solução é directamente proporcional, ao número, à massa de iões que se coloca nessa solução, indicando a pressão osmótica.

À medida que os monómeros estão a ser adicionados, a pressão osmótica vai aumentando. No momento em que esses



Variação típica de algumas propriedades físicas de uma solução aquosa de SDS relativamente à Concentração micelar crítica (CMC)

¹ O que tiver são propriedades físicas

monómeros se reúnem para formar agregados micelares a pressão osmótica deixa de variar para estabilizar.

⇓ Significa então que:

Determinando este ponto (ver imagem), a intersecção entre estas duas zonas, pode-se determinar a concentração micelar crítica.

O parâmetro que mais varia com os agentes tensioactivos, é a **tensão superficial**.

quando começa a haver adsorção dessas partículas, há um decréscimo bruto da tensão superficial que atinge um limite mínimo e que depois passa a haver uma estabilização.

Exemplo: no trabalho 2, há um decréscimo da tensão em função da concentração do butanol que deitavam na água.

⇓ "Mas porque é que depois de atingir esse mínimo, ocorre uma subida e logo a seguir uma estabilização?"

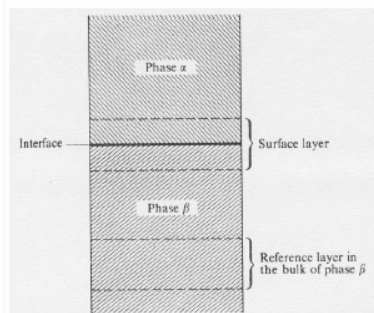
Porque também aqueles agregados micelares se vão orientando e vão cedendo alguns monómeros para a solução e vão adquirindo outros monómeros até haver um equilíbrio. As próprias micelas acabam por funcionar como uma interfase de adsorção de monómeros e de cedência de monómeros. Enquanto não existe esse equilíbrio, há uma variação na tensão superficial.

Tradução matematicamente dessa adsorção à superfície, na interfase líquido-líquido ou na interfase líquido-gás

Pode-se quantificá-la através duma isotérmica, nomeadamente a isotérmica de Gibbs que diz que, se se considerar duas fases:

uma fase alfa

uma fase beta → contém um soluto que vai ser adsorvido na fase alfa



Se a solução é diluída

$$a_B \cong C_B$$

- Considere a solução (fase β) de um soluto (B) e um solvente (A)
- A concentração superficial em excesso do componente B (Γ_B) na interface é dada pela equação de Gibbs

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \times \frac{d\gamma}{d \ln a_B}$$

Portanto, a concentração à superfície, ou seja, o excesso de concentração à superfície das moléculas que constituem a fase beta, relativamente à alfa, pode ser traduzida da forma como está representada na figura.

Esta adsorção é directamente proporcional à variação da tensão superficial e é inversamente proporcional ao logaritmo natural da actividade desse soluto que está a ser adsorvido.

Com soluções muito diluídas, a actividade não é o mesmo que concentração.

Atenção: trabalhando-se com concentrações muito diluídas pode-se confundir a actividade com concentração e nessa altura, a isotérmica de Gibbs passa a ser uma representação em função da concentração e não em função da actividade, já que o logaritmo natural da actividade é igual ao logaritmo natural da concentração mais o logaritmo natural de uma constante.

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \times \frac{d\gamma}{d \ln a_B}$$

Se se transformar logaritmos naturais em logaritmos decimais ($\ln a_B = \ln C_B + \ln \text{cont}$ e $d \ln a_B \cong d \ln C_B$, basta por 2.303 e a expressão anterior toma a seguinte forma:

$$\Gamma_B = - \frac{d\gamma}{2,303RTd \log C_B}$$

Γ_B (tau)= excesso de concentração à superfície (moles m⁻²); o excesso de concentração de molécula de soluto da tal fase B, que neste caso seria do butanol à superfície da água em moles por metros quadrado.

CB= concentração molar ou actividade molar da substância adsorvida

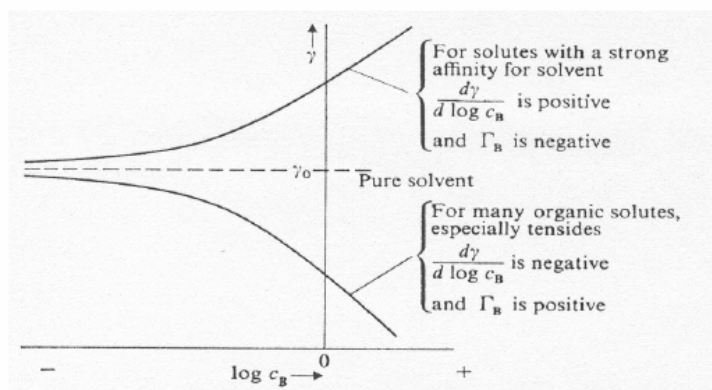
γ (pi)= tensão superficial (Nm⁻¹)

REPRESENTAÇÃO GRÁFICAMENTE A ISOTÉRMICA DE GIBBS.

Se se tem para um agente tensioactivo, uma representação gráfica como a da figura, em que, para determinados valores de concentração, se ela não for muito elevada, tem-se a linearidade da função.

Se tiver pi versus logaritmo de c tem-se a linearidade da função.

Relação entre a tensão superficial (γ), a concentração do soluto (c_B) e o sinal do excesso na superfície Γ_B



Esta função é linear e é decrescente, o que significa que o declive da recta é negativo e aplicando este declive da recta na expressão correspondente à isotérmica de Gibbs

↓

Passa-se a ter uma adsorção positiva à superfície, na interfase líquido-líquido ou líquido-gás. Já o mesmo não acontece se se tiver substâncias que em vez de diminuírem a tensão superficial, provocam um aumento da tensão superficial. Estas substâncias vão originar uma isotérmica de Gibbs em que o declive é positivo e a adsorção à superfície é negativa.

Estas substâncias são normalmente aquelas que se solubilizam no seio da fase e não têm capacidade de se deslocar para a interfase como é o caso dos agentes tensioactivos.

EXEMPLO: A forma de utilizar analiticamente a isotérmica de Gibbs é aquilo que se faz na aula:

Efectua-se medidas de tensão superficial em soluções com diferentes concentrações de soluto.

Faz-se um gráfico de pi versus logaritmo de PV

Obtem-se uma recta que pode ser positiva ou pode ser negativa.

De acordo com o declive da recta:

- se ele for negativo → há adsorção é positiva, logo há presença de um agente tensioactivo.
Ex.: Os sabões, os ácidos gordos, as aminas, as próprias proteínas têm funções tensoras.
- Se ele for positivo → há uma adsorção negativa.
Ex.: os açúcares, os polissacarídeos ou qualquer coisa que se dissolva numa solução.

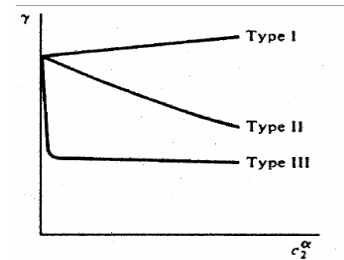
VARIAÇÕES DA TENSÃO SUPERFICIAL EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE TENSIOACTIVO

Três tipos de comportamento de substâncias.

Tipo 1 → aumento da tensão superficial em função da concentração e são substâncias (compostos orgânicos) que normalmente têm grupos OH ou COOH e um grupo apolar;

Tipo 2 → decréscimo da tensão é uma coisa muito atenuada; Ex.: sais inorgânicos e sacarose

Tipo 3 → decréscimo brutal da tensão até atingir a concentração micelar crítica e depois uma estabilização da mesma. Ex.: Sais orgânicos de cadeia média (sabões, RCOONa^+); sais de amóni quaternário $[(\text{CH}_3)_3\text{RN}^+\text{Cl}^-]$; compostos de polioxietileno $[\text{R}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}]$ em que $n=5-15]$



↓ Os grupo funcionais, significam:

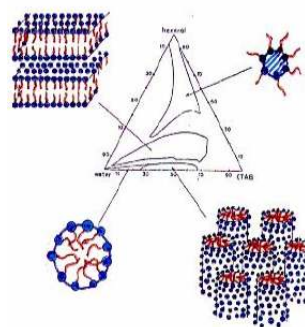
que se se fizer um sistema constituído por três fases, em que por exemplo temos água, noutro fenol e finalmente, noutro temos uma substância tensora, isto é uma mistura de água e fenol → Se se tentar dissolver fenol em água, até uma determinada concentração, temos uma fase única, isto é, o fenol solubiliza-se em água.:

Até cerca de 7% de fenol há uma fase homogénea porque todo o fenol se solubiliza em água.

A partir de 7% há a formação de duas fase, não é possível dissolver mais fenol em água. Só é possível através da adição de um agente tensioactivo.

Atenção tentar perceber pelo gráfico....

E então se se considerar que aqui está fenol e aqui está água, vai-se ter uma zona → esa zona daqui é uma zona perfeitamente homogénea, depois vou ter uma zona que aqui está representada por isto, uma zona onde não há solubilização, há a formação de duas fases. Mas quando o fenol passa a estar em muito maior quantidade que a água, ocorre outra vez a formação de uma fase homogénea. Agora, se eu me localizar aqui, eu posso transformar esta fase heterogénea em homogénea se eu adicionar progressivamente quantidades de agente tensioactivo.



■ Influência da concentração do tensioactivo na solubilização

Se eu for aumentando desde 0 a 100% a quantidade de agente tensioactivo, eu atingo uma fase homogénea. Claro que o mesmo já não acontece aqui. Eu posso aumentar, passo por uma fase homogénea mas logo a seguir passo por uma fase heterogénea.

↓ Isto tem haver com quê?

Tem haver com a distribuição das próprias micelas que formam agregados que podem ser em forma de:

- Bastonete
- em placas.

Utilização dos agentes tensioactivos

são muitas vezes utilizados para alterar a solubilidade das substâncias só que essa alteração tem que ser estudada em função da concentração ou em função da percentagem relativa de soluto e de solvente.

É muitas vezes utilizada na indústria para tornar, por exemplo um xarope que está com um aspecto de duas fase porque tem um composto hidrofílico misturado com um composto hidrofóbico e é desagradável para o doente ver um xarope com duas fase. Normalmente utiliza-se um agente tensioactivo em determinada concentração para as duas fases se misturarem razoavelmente de forma a formar uma fase totalmente homogénea.

Claro que esta adição tem que ser feita com cuidado e através de estudos para não ocorrer que por um aumento de concentração de agente tensioactivo, se caia outra vez numa situação de dupla fase. Com isto acabamos

FENÓMENOS DE TRANSPORTE

1. MOLÉCULAS DE GÁS (por não haver interações entre moléculas)

Uma molécula, quando está a uma determinada temperatura, tem uma determinada energia cinética e o seu movimento no meio é determinado em função dessa energia cinética.

E ao aumentar a temperatura, naturalmente que aumentam:

- | | | |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none">1. as vibrações;2. as rotações;3. as translações | } | dessa molécula o que determina com certeza o seu movimento. |
|--|---|---|

Significa então que:

o movimento das moléculas, que normalmente é um movimento aleatório e não um movimento direccionado é dependente da (ou seja, a velocidade depende de):

- temperatura
- tamanho
- sua forma

Para uma dada temperatura e para uma determinada molécula pode-se calcular:

- a probabilidade de uma molécula ter uma velocidade particular
- a velocidade média para todas as moléculas

Segundo Maxwell Boltzmann: Em moléculas de gás, se se fixar a temperatura, para moléculas de características semelhantes, ou seja de massas semelhantes, a probabilidade de encontrar com a mesma energia um determinado número de moléculas é **uma**.

equação →

$$f(E) = \frac{1}{Ae^{E/kT}}$$

Maxwell-Boltzmann

Normalization constant A

The probability that a particle will have energy E

With increasing energy E, it is progressively less likely that any given particle will attain that energy, so more particles will be found with lower energies. It is assumed that an unlimited number of particles can occupy any energy state.

The probability for occupying a given energy state decreases exponentially with energy

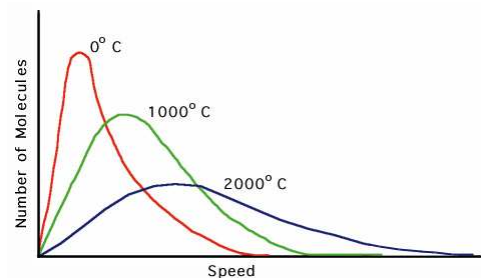
Boltzmann's constant k times the absolute temperature T. The implication of this term is that for a higher temperature, it is more probable that a given particle can be found with energy E.

Portanto, pode-se concluir que para uma determinada temperatura e para uma molécula característica ou com um determinado peso, pode-se calcular a probabilidade de a molécula ter uma determinada energia e portanto ter uma determinada velocidade movimento e a velocidade média de todas as moléculas em função dessa energia.

Segundo a equação de Maxwell Boltzmann , a probabilidade de encontrar um número de moléculas com uma determinada energia é função exponencial da temperatura e também da energia média das partículas.

⇓ Significa então que:

Para diferentes temperaturas, a probabilidade de encontrar um maior número de moléculas com uma determinada velocidade se localiza nesta zona se a temperatura for 0°C, ou se for 2000°C naquela zona.



2. NO CASO DOS LÍQUIDOS,

Os movimentos de rotação e translação já estão muito mais limitados porque nos líquidos, as partículas estão muito mais condensadas e portanto o seu movimento será muito mais limitado por algo exterior do que propriamente pela sua própria resistência.

Enquanto que:

nos gases → a velocidade das moléculas é quase só dependente da energia que se lhes fornece, porque quase não há interações moleculares, n

nos líquidos → PARA ALÉM DISSO há também interações com as moléculas vizinhas que por muito que se queira ter uma velocidade determinada, há sempre choques com as moléculas vizinhas que vão reduzir a sua velocidade.

De que depende a velocidade movimento das moléculas?

- Da temperatura
- Do tamanho e forma da molécula

Nota: formas esféricas vão ter movimentos muito mais rápidos do que formas assimétricas de igual peso molecular.

↓ Porquê

Exemplo: se fossemos todos magrinhos e fossemos entrar para um autocarro, com certeza que entrávamos todos com uma determinada velocidade. Se por acaso aparece um gordo no meio de nós, naturalmente que a velocidade já é condicionada por essa pessoa conseguir encaixar no meio dos magros que vão entrar para o autocarro.

↓ significa que:

Quando se adiciona um sal a uma solução, há inicialmente formação de iões, que depois de solvatarem vão formar partículas de determinado tamanho que consoante a temperatura, vão-se difundir a velocidades diferentes, isto é, vão-se movimentar a velocidades diferentes.

E esse movimento aleatório das moléculas é denominado **difusão**

⇓ pode ocorrer por diversas questões:

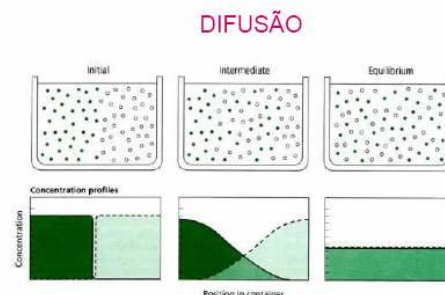
Pode ser resultante de gradientes de concentração;

Pode ser função do potencial eléctrico;

Pode ser função da pressão.

Voltando ao exemplo do autocarro:

Se se tiver duas populações de moléculas (uma parte verde escuro e outra parte verde claro), e se forem todas a entrar para o mesmo autocarro, nota-se que numa zona estão os verdes escuros e noutra zona estão os verdes claros.



Naturalmente que as pessoas quando entram no autocarro, vão tentar procurar aleatoriamente um local mais cómodo para se poderem agarrar. E então o que acontece é que se vão misturando com aquelas que já lá existem.

Numa solução os solutos são transportados devido a forças impulsoras que podem ser : gradientes de concentração; potencial eléctrico ou pressão

⇓ Significa que:

1. Ao fim de algum tempo, se se for registar o perfil de concentração dessas substâncias, das verdes escuras que entraram numa paragem, e das verdes claras que já lá estavam, dá-se conta que esse perfil de concentração das verdes escuras vai decrescendo à esquerda para a direita, ao contrário das verdes claras que vão crescendo.

2. Chegado a determinada altura, ao fim de algum tempo, já está tudo tão misturado que já não se consegue saber quais são os verdes escuros que entraram numa paragem e os verdes claros que já lá estavam.

Conclusão: a difusão ocorre com um determinado movimento e esse movimento é perfeitamente aleatório e é função da:

- energia que cada molécula tem
- probabilidade que ela tem de ocupar os espaços.

Atenção, lá vamos nós outra vez com a história do autocarro

As pessoas mais cansadas ficam à porta do autocarro e não vão procurar lá atrás um local para se agarrarem e naturalmente que virem alguém gordo à frente, terão muito mais dificuldade em procurar um lugar para se poderem misturar.

A difusão tem em base este fenómeno em que:

os substractos são adsorvidos e são penetrados nas célula e esse transporte é função da massa das partículas e vai sempre de uma zona de alta concentração para uma zona de baixa concentração.

O movimento aleatório das partículas faz com que elas choquem umas com as outras e esses choques determinam o movimento das mesmas.

Atenção: não há só movimento das partículas por difusão por gradiente de concentração, nem movimento das partículas porque há movimento aleatório. Qualquer partícula sujeita a um campo gravitacional naturalmente deixa de ter um movimento aleatório para passar a ter um movimento direccionado.

O que acontece quando se sujeita uma mistura de moléculas a uma centrifugação.

De acordo com a velocidade de centrifugação e se se escolher a força centrífuga adequada pode-se separar tecnicamente moléculas com determinado peso molecular, outras mais pequenas e outras ainda mais pequenas.

- As únicas moléculas que depositam por acção de um campo gravítico natural são:
- os ribossomas;
- os vírus;

Todas as outras moléculas que são constituintes dos nossos líquidos extra-celulares têm que ser separadas por centrifugação a várias pressões. Logo, essa velocidade de sedimentação que é função do movimento das partículas, é dependente da sua:

- Massa;
- Tamanho;
- forma,



Porque muitas vezes partículas grandes que têm formas assimétricas são mais difíceis de separar por um processo natural de força de pressão baixa do que propriamente moléculas de valor intermédio.

Atenção: quando se coloca alguma coisa numa centrífuga, é só o fenómeno de pressão, é só o fenómeno de centrifugação que comanda esse depósito. Há naturalmente um fenómeno intrínseco que é o de difusão, de mistura das moléculas mais pequenas com as maiores que ao equilibrar-se com a sedimentação determina a separação das moléculas.

Por isso se se observar um tubo de uma centrífuga, apercebe-se que no topo da centrífuga estão localizadas as moléculas mais pequenas, mas essa localização não é uma coisa recta. Há sempre

uma zona mais ou menos mal definida que implica que o fenómeno que aqui está a ocorrer é um fenómeno misto de sedimentação e difusão.

FENÓMENO DE TRANSPORTE: SEDIMENTAÇÃO

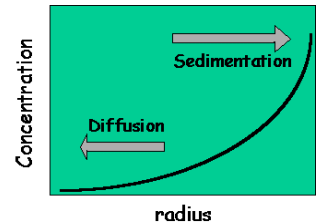
Mas a sua localização não é uma coisa recta. Há sempre uma zona mais ou menos definida que implica que o fenómeno que aqui está a correr



Fenómeno misto: centrifugação e difusão.

Prque há um equilíbrio, há um arredondamento nesta zona.

O gradiente de concentração que se estabelece no tubo da centrífuga é consequência do peso molecular das moléculas



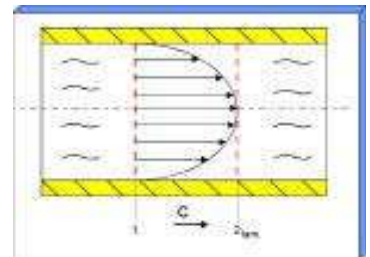
FENÓMENO DE TRANSPORTE: VISCOSIDADE

Fenómeno em função da pressão interna das moléculas.

Viscosidade de um fluido – medida da resistência ao fluxo

As moléculas, em locais diferentes do fluido, têm velocidades médias diferentes na direcção do fluxo.

Isto é as moléculas internamente, chocam umas com as outras devido aos fenómenos de difusão. E esse chocar cria uma certa resistência ao seu fluxo.



Surge então o fenómeno físico: **VISCOSIDADE**

↓ depende:

- Forma das moléculas
- Da forma como interagem
- Aumenta sempre com o aumento da concentração, tamanho das moléculas e moléculas de solvente.

Também a viscosidade pode servir para caracterizar:

- Tamanho
- Forma das moléculas.

Se tivermos um líquido a correr de forma aerodinâmica num tubo, isto é, não ser turbulento, verifica-se que nas paredes junto ao tubo, a velocidade é mínima, comparada com a velocidade no meio do tubo.



Significa que:

- As moléculas que estão no meio chocam entre si e portanto podem ter uma determinada velocidade

- Os que estão encostadas ao tubo, para além de chocarem entre si, ainda exercem determinado atrito com as próprias moléculas sólidas que constituem o tubo, fazendo retardar o seu movimento (das moléculas)

Por isso é que o perfil do fluxo é um perfil deste tipo.

NOTA: Em MIA, as técnicas de automatização do fluxo contínuo, a introdução de um líquido por injeção num sistema de fluxo contínuo se faz por este perfil.

Logo, para esta dispersão pode ser controlada pela velocidade e não só pelas características da própria solução que introduziu-se.

RECORDANDO:

O movimento das partículas podia ocorrer devido:

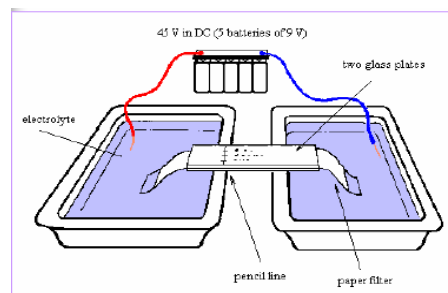
- Gradiente de concentração (difusão)
- Pressão interna
- Sedimentação
- Viscosidade
- Potencial de electrodo



FENÓMENO DE TRANSPORTE: ELECTROFORESE

Temos:

- Duas tinas com uma solução
- Coloca-se uma fita de acetato de celulose onde se colocar outra fita (tipo as de cromatografia) por cima, e nessa última fita, aplica-se a amostra.



Electroforese - é o movimento de moléculas carregadas, num campo eléctrico

Depende:

- da carga da molécula
- do tamanho e forma da molécula

Nota: Em soluções aquosas é muito difícil quantificar o campo eléctrico efectivo e a carga efectiva de uma macromolécula porque todos os outros iões estão presentes. Por isso a electroforese é usada para medir tamanhos e formas relativas das moléculas em vez de valores absolutos

Por variação do pH da solução, pode-se transformar estas moléculas, em iões.

Aplicando uma diferença de potencial de electrodo a esta solução → pode-se obrigar a migrar catiões para os pólos negativos e os aniões para os pólos positivos.

Esse movimento de migração é em função da carga, tamanho e forma das moléculas.

Exemplo: O perfil das proteínas do soro (separação das proteínas), tais como gamaglobulina e betaglobulina, é feito por electroforese.

Conclusão: as **PROPRIEDADES DO TRANSPORTE** em estudo são:

- Difusão e Sedimentação – medem o transporte de massa
- Viscosidade – mede o transporte de momento
- Electroforese- mede o transporte de carga



Em todas as situações, dão-nos indicação sobre as moléculas: tamanho, forma

PROPRIEDADES DE TRANSPORTE: APLICAÇÕES

As propriedades são utilizadas em:

- Purificações
 - Separações
 - Análises
- } Partículas celulares, proteínas e ácidos nucleicos

E no caso particular da sedimentação e da electroforese em gel, a aplicabilidade deles é muito relacionada com os aspectos bioquímicos.

SEDIMENTAÇÃO – permite o fraccionamento baseado nas diferenças dos coeficientes de sedimentação, ou seja, velocidade em que esta depende da massa da partícula, do seu formato e da densidade relativamente ao solvente onde está incluído.

ELECTROFORESE DE GEL – usada para separar proteínas nativas que diferem entre si pela carga ou proteínas desnaturadas que diferem entre si por uma unidade peptídica ; usada para separar ácidos nucleicos que diferem entre si por um nucleótido e por isso determinar a sua sequência destes nucleotídeos; separa fragmentos de DNA

CONCEITO DE DIFUSÃO: COEFICIENTE DE DIFUSÃO

A difusão ocorre sempre que há uma diferença de concentração no recipiente. A difusão tende a igualar as concentrações nos dois lados do recipiente.

A difusão pode ser um método efectivo de transporte de moléculas.

Ocorre de um local com maior concentração para um local de menor concentração

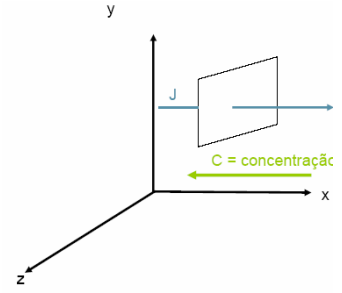
Processo lento que pode ser acelerado por agitação. Mas, se não ocorrer mais nenhum fenómeno o transporte/movimento aleatório das moléculas, a difusão é um processo lento.

Exemplo.: quando mexemos o café é para o açúcar se dissolver todo no café. Se nada fizéssemos, quando o açúcar tivesse dissolvido, o café já estaria frio.

DIFUSÃO EM ESTADO ESTACIONÁRIO: CONCEITO DE FLUXO DE DIFUSÃO

Pode fazer-se através do fluxo de difusão.

Se se admitir que as moléculas em solução atravessam uma secção unitária, num plano yz. \Rightarrow **fluxo de difusão** será a quantidade de soluto (numero de moléculas) que se difunde através unidade de área, por unidade de tempo, na direcção x.



Esse fluxo de difusão pode ser representado matematicamente por variação de m(massa ou numero de átomos) em ordem ao tempo, e é naturalmente inversamente proporcional à área que as moléculas atravessam.



O fluxo é muito mais rápido quanto menor a área que a molécula tem que atravessar

EXPRESSÃO MATEMÁTICA: $J = \frac{M}{A \cdot t} = \frac{1}{A} \times \frac{dM}{dt}$

M- massa (ou número de átomos)

A- área

t- tempo

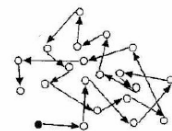
J- em átomos/cm².s ou mol /cm².s ou equivalente

É **CONSEQUÊNCIA** daquilo a que se chama **MOVIMENTO BROWNIANO**.

DIFUSÃO E MOVIMENTO BROWNIANO

Em solução, as partículas de soluto estão em contínuo movimento devido à energia térmica do sistema = **Movimento Browniano**.

As moléculas de soluto colidem continuamente com as moléculas de solvente e a energia cinética transferida às partículas de soluto provocam o seu movimento aleatório, através da solução.



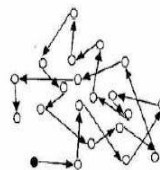
Movimento Browniano de uma partícula de soluto

Se existir uma diferença de concentração de soluto entre duas zonas da solução, existirá uma migração (difusão) do soluto das regiões de elevada concentração para as regiões de baixa concentração, até haver igualdade de concentração, nas duas regiões. No equilíbrio, a difusão pára embora as moléculas de soluto continuem a mover-se.

Não há migração porque o gradiente de concentração desaparece.

EINSTEIN \rightarrow resolveu quantificar esta difusão (através do coeficiente de difusão) em função do raio das partículas.

Esta difusão é inversamente proporcional ao quadrado do raio das partículas.



Movimento Browniano de uma partícula de soluto

A velocidade com que as moléculas de soluto migram através do solvente depende do **tamanho** e da **forma** das partículas.

O parâmetro que descreve esse movimento é chamado **Coeficiente de Difusão**

Albert Einstein mostrou que:

$$D \propto \frac{1}{r^2}$$

À medida que o raio molecular aumenta, D decresce com o quadrado do raio porque aumentam as fricções entre solvente e soluto

Conseguiu calcular que a variação de movimento das partículas (espaço que elas percorriam) era directamente proporcional ao coeficiente de difusão e ao tempo que elas demoravam a difundir.



So que esta proporcionalidade não é directa: o quadrado da distância que era percorrida por estas substancia é que é proporcional ao coeficiente de difusão ao tempo que demoravam a progredir.

DIFUSÃO E MOVIMENTO BROWNIANO

Isto significa que há uma relação proporcional entre a variação da concentração, num ponto e noutro, de uma superfície, quando as moléculas atravessam uma distância x .

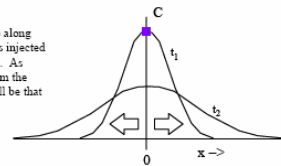
Então o fluxo de difusão é directamente proporcional ao tal gradiente de concentração (que corresponde à variação da concentração relativamente à variação de distância que as moléculas atravessam).

$$(dx)^2 = 2Dt$$

$(dx)^2$ – quadrado do deslocamento médio (distância difundida)

Relação de Einstein – mostra o tempo médio necessário para que as moléculas de soluto migrem de um ponto para outro

Distribution of molecular concentration (C) along the axis of travel at two times. The dye was injected at 0 on the x-axis and spreads out with time. As movement of individual molecules is random the 'spreading-out' of the mass of molecules will be that of a normal distribution.



Perfis de concentração produzidos em dois intervalos de tempo como resultado da difusão a partir de uma fonte planar inicial.

A relação de Einstein diz-nos qual a distância média que uma molécula difundirá por tempo. Esta relação mostra que o tempo necessário para a difusão aumenta com o quadrado da distância sobre a qual ocorre a difusão

O movimento das moléculas é em função do excesso de concentração num ponto e do défice de concentração noutro ponto.

CONCLUSÃO: Segundo Einstein, pode-se representar geometricamente o movimento das partículas numa determinada área, apercebendo-se que inicialmente o maior numero de partículas se localizava no ponto roxo segundo uma curva browniana. Se se esperar algum tempo, a concentração vai decrescer do ponto roxo e vai aumentar progressivamente para os lados.

No fundo, a equação de Einstein, dá-nos uma indicação da distancia média de cada partícula que funde por tempo, mostrando o tempo que é necessário para que a difusão ocorra em função da distancia que as partículas tem de percorrer.

RESUMINDO:

Para além de outros fenómenos, também indicamos o transporte de moléculas.

- Sedimentação
- Electroforese em gel (no caso da diferença do potencial eléctrico)

O processo de difusão corresponde ao transporte de uma quantidade de moléculas quando se deslocavam numa determinada área e num determinado tempo.

Uma molécula quando está em estado estacionário, isto é, não há nenhuma força externa que impulsiona o transporte das moléculas para além do seu próprio movimento aleatório. Então, o fluxo de

difusão é constante ao longo do tempo, isto é, o número de moléculas que se desloca é sempre o mesmo, qualquer que seja o tempo. E esse fluxo é directamente proporcional ao gradiente de concentração quando estas moléculas atravessam uma indeterminada substância e segundo a relação de Einstein.

O quadrado do deslocamento das moléculas é directamente proporcional à difusão e ao gradiente de concentração.

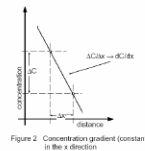
Um britânico, quando estava a observar ao microscópio, a partícula de pólen, apercebeu-se que o seu movimento se fazia aleatoriamente com moléculas a chocarem, mas com as outras e ocupando espaço sucessivamente espaços diferentes. Isto é o movimento fazia-se num sentido demorando um determinado tempo.

1ª LEI DE FICK

A 1ª lei diz que o fluxo é directamente proporcional à variação da concentração em ordem ao percurso das moléculas executem.

Claro que, sabendo nós que o fluxo é uma variação das moléculas numa determinada área e de tempo, pode-se relacionar esta variação com a lei de Fick.

Naturalmente que o sinal negativo surge, porque as moléculas passam de uma zona de alta concentração para uma de baixa concentração. O fluxo acaba por ser positivo embora essa variação seja negativa.



$$J = \left(\frac{dn}{dtA} \right) = -D \frac{dc}{dx}$$

$$\frac{dc}{dx} = \text{mol.cm}^{-3}$$

1ª Lei de Fick: o fluxo difusivo ("velocidade" de difusão) é proporcional ao gradiente de concentração existente

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} \right)$$

Obs.: Note que esta relação é independente do tempo. O sinal "negativo" indica que o fluxo da difusão ocorre da concentração mais alta para a concentração mais baixa.

$$J \left(\frac{\text{moles}}{\text{cm}^2 \text{ s}} \right) = -D \left(\frac{dc}{dx} \right) \left(\frac{\text{moles.cm}^{-3}}{\text{cm}} \right)$$

$$D = \text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$$

O conceito de coeficiente de difusão resulta da expressão:

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} \right)$$

Pode ser útil na caracterização das moléculas, do percurso e da sua forma. As unidades em que se exprime são cm^2/s ou m^2/min (significado físico é o percurso que as moléculas têm por unidade de tempo).

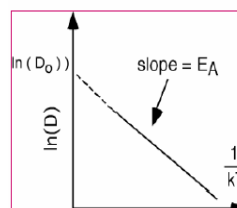
É de realçar que se for um estado estacionário, o percurso é sempre constante em função do tempo. O mesmo já não acontece quando o fluxo não é estacionário.

COEFICIENTE DE DIFUSÃO: EQUAÇÃO DE ARRHENIUS

Naturalmente que, sendo a difusão determinada pelo movimento e sendo o movimento o cálculo da energia média das moléculas, pode-se estabelecer uma relação entre o coeficiente de difusão e a temperatura a que o sistema está. Esta reacção química é um processo termicamente activado e por isso há uma relação directa entre a difusão e a temperatura. E se se logaritmizar esta expressão, pode-se calcular a energia de activação que é necessária para promover a difusão e calcular a temperatura mínima para que haja um decréscimo da

Difusão – é um processo activado termicamente. O **coeficiente de difusão** dá uma ideia da "velocidade de difusão"

- Depende:**
- ☒ da natureza das moléculas em questão
 - ☒ da concentração do soluto
 - ☒ da temperatura



$$D = D_0 e^{-E_a/RT}$$

D_0 = (difusividade)- constante independente d temperatura (m^2/s)

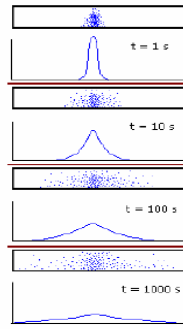
E_a = energia de activação para a difusão (J/mol ; eV/atomo)

concentração em função do tempo.

DIFUSÃO EM ESTADO ESTACIONÁRIO: PERFIS DE DISTRIBUIÇÃO MOLECULAR

Este exemplo mostra como é possível calcular o fluxo em função do coeficiente de difusão das partículas e da concentração destas partículas quando estão no interior e exterior da célula.

O gráfico mostra que no T_0 , as partículas estão todas localizadas nesta zona central. E ao deixar passar algum tempo, por exemplo 1 segundo, verifica-se que a grande parte das moléculas está ainda na zona central, mas há algumas que difundiram.



Perfil de concentração numa experiência de difusão

Um exemplo:

A difusão de Na^+ através da membrana celular.

Se a concentração de Na^+ intracelular for 50 g/m^3 e a concentração extracelular for 200 g/m^3 , o coeficiente de difusão for $2 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ e a espessura da parede celular for 30 nm , qual é a velocidade de transporte de sódio através da membrana?

Assuma que as concentrações em ambos os lados da membrana são constantes com o tempo e que o fluxo é estacionário.

$$j = -D \frac{dc}{dx}$$

$$J = -2 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s} \frac{200 \text{ g/m}^3 - 50 \text{ g/m}^3}{30 \times 10^{-9} \text{ m}} = -10,0 \text{ gm}^{-2}\text{s}^{-1}$$

Controlando o tempo, verifica-se o decréscimo de concentração do interior, havendo uma dispersão para os lados. Até que ao fim de um tempo suficiente para estabelecer o equilíbrio, há uma mistura completa das moléculas com o meio envolvente e não se consegue ao certo determinar qual o local, qual a área onde há um aglomerado de moléculas, ou seja, o movimento das partículas só depende delas próprias, da sua energia de activação, da sua actividade térmica, pode-se dizer que o fluxo é directamente proporcional a essa variação da concentração.

Em jeito de conclusão, para um tempo constante, o fluxo de iões Na^+ na membrana, é da ordem dos $10 \text{ g.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

É assim que é possível saber quais são as concentrações de substância activas, sob o ponto de vista farmacológico, que se tem que fornecer ao doente, em função do fluxo de cada substância para o interior da célula, de forma a não provocar: ou excesso de concentração no interior, ou défice de fluxo quando prevemos que o ião deve ser transportado para o interior da célula.

DIFUSÃO EM ESTADO NÃO ESTACIONÁRIO: 2ª LEI DE FICK

Mas, se se tiver apenas uma dependência da variação da concentração das moléculas em tempos constantes, considerando uma determinada distância, pode-se considerar que a molécula está num tempo T_1 (está num sítio) e num tempo T_2 (está noutro sítio). E como o movimento é aleatório, então a variação de concentração nos pontos é constante a não depende do tempo: é considerado um estado estacionário.

O tratamento quantitativo do processo de difusão em estado não estacionário é formulada através de uma equação parcial diferencial

Diferenças entre difusão de um gás em estado estacionário e estado não estacionário

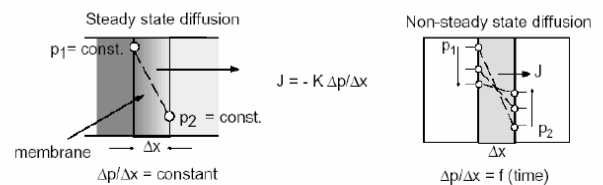


Figure 4 Steady state and Non-steady state diffusion

Porém, se houver uma causa ou fluxo exterior que contribua para este fluxo, então há para tempos diferentes, a concentração no T_0 vai ser também diferente. Ou seja, a variação da concentração, (neste caso das moléculas de um gás em função da distância que elas percorrem) é em função do tempo.

Assim o tratamento matemático em questões de fluxo, em questões de estado não estacionário, é diferente e não pode ser tratado de forma tão linear como a 1ª lei de Fick determina.

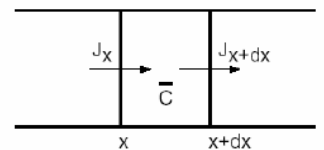
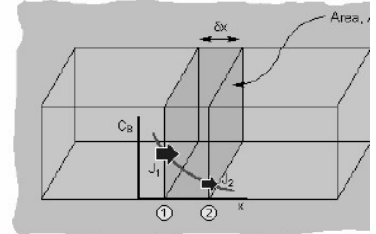
Exemplo:

Considera-se então um estado não estacionário, um elemento de volume (dentro de um sistema que está localizado entre x e $x+dx$, através de uma área de secção) de uma membrana que separa dois volumes finitos envolvidos no sistema de difusão. E o fluxo do interior deste elemento de volume menos o fluxo de exterior do elemento do volume (porque também contribui para este movimento) é proporcional à variação da concentração neste elemento de volume, mas tempos diferentes.

Considere um elemento de volume (entre x e $x+dx$, através da área da secção) de uma membrana que separa dois volumes finitos envolvidos num sistema de difusão. O fluxo de um dado material no interior do elemento de volume, menos o fluxo no exterior do elemento de volume iguala a velocidade de acumulação do material nesse elemento de volume

$$J_x - J_{x+dx} = \frac{\partial \bar{c}}{\partial t} dx$$

\bar{c} - concentração média no elemento de volume; $c dx$ - quantidade total de material que se difunde no elemento durante o tempo t



Ou então pode dizer-se que esta diferença iguala a velocidade de acumulação do material nesse elemento de volume.



Surge então a lei de Fick que já tem de levar um enquadramento matemático diferente, portanto tem que recorrer à expansão daquilo que se passa em cada um dos tempos, chegando à expressão acima referida.

A variação da concentração, em ordem ao tempo, é directamente proporcional ao coeficiente de difusão e ao quadrado da derivada de t , em ordem à distância que as moléculas percorrem.

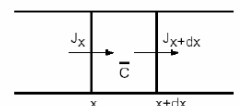
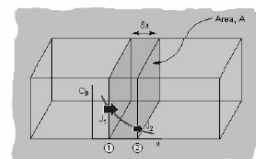
Usando as séries de Taylor, podemos expandir J_{x+dx} , cerca de x e obteremos:

$$J_{x+dx} = J_x + \frac{\partial J_x}{\partial x} dx + \frac{\partial^2 J_x}{\partial x^2} \frac{dx^2}{2} + \dots$$

Uma vez que $dx \rightarrow 0$

$$\frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial c}{\partial x} \right) = \frac{\partial c}{\partial t}$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}$$



CONCLUSÃO: Se se tiver que estudar o movimento do fluxo estacionário, tem-se de aplicar a 1ª lei de Fick, se o movimento não for estacionário, aplica-se a 2ª lei de Fick.

COMO EXEMPLO PRÁTICO:

Se introduzirmos um eléctrodo de pH para medir a concentração hidrogeniónica de uma solução, o que acontece é que os iões H^+ da solução vão ser transportados para a membrana do eléctrodo através de um gradiente de concentração, o fluxo que se estabelece em função, não só do tamanho das moléculas, mas também do coeficiente das mesmas e da distância que elas têm que percorrer.

Significa então que o eléctrodo de pH terá, em estado estacionário, um tempo de resposta que vai depender deste gradiente de concentração. Se se agitar a solução onde está o eléctrodo de pH, passa-se como um “degradé”(?) de concentração em que cada um dos pontos da variação da concentração em ordem ao tempo é diferente, então favorece-se o tempo da exposta da unidade analítica.

Basicamente, o fluxo de difusão e o gradiente de concentração variam com o tempo, de acordo com a lei de Fick, em que este parâmetro é designado por **DIFUSIVIDADE**.

É um parâmetro que é independente da temperatura e indica-nos qual a frequência vibracional das moléculas e qual é o salto que as moléculas dão dentro do volume que atravessam.

A equação de Fick só pode ser considerada se considerarmos antes da difusão, todas as moléculas do soluto estão uniformemente distribuídas, mantendo a concentração inicial constante. Em que o valor de x (valor da distância que eles percorrem na superfície) é 0. E que depois aumenta, à medida que as moléculas avancem em profundidade na solução.

O coeficiente de difusão permanece constante e não muda com a concentração. O tempo, que é considerado, tempo 0 tem que imediatamente antes do início da difusão. Já que no momento T_0+dx há uma variação de concentração das moléculas.

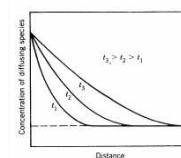
Isto significa que os esquemas (que a prof mostrou na aula anterior) e que tem um perfil da variação da concentração das moléculas verdinhas e das moléculas verdinhas claras. Este perfil, não é um perfil que se vai prolongando na forma que este.

Ou melhor, se tivéssemos um fluxo estacionário, o que acontecia é que tínhamos as moléculas concentradas no centro. Ao fim de algum tempo, tínhamos o perfil mas mais baixo (e sem mistura). Ao fim de mais algum tempo, o perfil estaria mais baixo ainda até haver uma completa mistura das moléculas.

No momento em que está associado o estado não estacionário com o fluxo exterior, o perfil não é assim enquadrado.

Isto variava da mesma forma se o T_1 estaria aqui, não T_2 estaria aqui, no T_4 estaria aqui, até estarem todas misturadas. Exactamente porque há um fluxo exterior, o perfil que se estabelece, é um perfil inozoidal.

2a Lei de Fick: em condições de difusão em estado não-estacionário (condições transientes), o **Fluxo de Difusão** e o **Gradiente de Concentração** variam com o "tempo".



$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$$

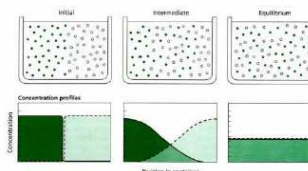
Se a "difusividade" não depende de "x" tem-se

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial C}{\partial x} \right)$$

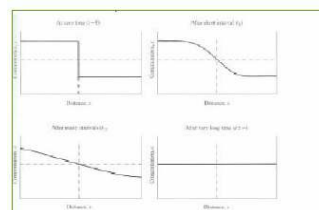
$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$$

A equação diferencial de segunda ordem só pode ser resolvida se forem cumpridos os seguintes requisitos:

- Antes da difusão, todas as moléculas do soluto em difusão estão uniformemente distribuídas, mantendo uma concentração " C_0 ";
- O valor de " x " na superfície é zero e aumenta à medida que se avança, em profundidade, na solução
- O coeficiente de difusão permanece constante (não muda com a concentração)
- $t = 0$ imediatamente antes do início da difusão



Difusão de um material com um gradiente de concentração (etapa inicial). Os perfis são indicados para $t=0$ e t_1 , t_2 e t_3 .



O comportamento correcto é descrito pela 2ª lei de Fick

Significa que, no mesmo ponto, a concentração das moléculas relativamente a essa distância não é o mesmo que a concentração aqui. Há continuamente uma variação da concentração em função do tempo que as moléculas demoram a difundir.

COEFICIENTE DE DIFUSÃO

Como é possível fazer a determinação?

(já que este parâmetro é muito importante em termos moleculares, porque permite uma caracterização da molécula)

Há processos muito específicos, iremos ver o que nos dá um valor absoluto do coeficiente de difusão, mas muitas vezes é muito complicado de o determinar.

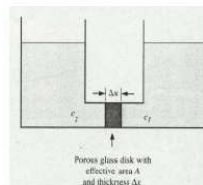
MÉTODO

- Medir a quantidade de material que é transferido, através da unidade de área e por unidade de tempo num disquinho que permite a difusão.

- Usar um disco de vidro poroso de espessura Δx , para separar duas soluções de diferentes concentrações, num e noutro lado.

- A velocidade de transferência do material (mol s^{-1} ou g s^{-1}) através do disco pode ser medida usando um marcador radioactivo. A velocidade de transferência é registada, tornando uma das soluções radioactivas. Depois vai-se registando a radioactividade ao fim de algum tempo dum lado da solução.

- E os outros dois pontos, tal como está no acetato.



$$D = -J \left(\frac{\Delta x}{c_2 - c_1} \right)$$

$J = \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ou $\text{g cm}^{-2} \text{s}^{-1}$

$c_2, c_1 = \text{mol cm}^{-3}$ ou g cm^{-3}

$\Delta x = \text{cm}$

$D = \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$

- Medir a quantidade de material que é transferido, através da unidade de área e por unidade de tempo.

- Usar um disco de vidro poroso de espessura Δx , para separar duas soluções de diferentes concentrações

- A velocidade de transferência do material (mol s^{-1} ou g s^{-1}) através do disco pode ser medida usando um marcador radioactivo.

- A área efectiva do disco poroso é determinada por calibração do mesmo com uma substância cujo coeficiente de difusão é conhecido

- J é obtido dividindo a velocidade de transferência do material pela área efectiva do disco poroso

- J é obtido dividindo a velocidade de transferência do material pela área efectiva do disco poroso

Só que, para manter a concentração, utilizam-se grandes volumes de solução quer de um lado quer do outro e processa-se uma agitação. Nessa altura determina-se D que é um valor absoluto.

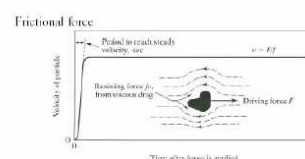
Quando as moléculas são incluídas em soluções muito diluídas ou quando elas têm uma determinada forma, nada interfere na difusão. Na maioria dos casos, sobretudo em ambientes macromoleculares como são o caso das soluções que existem no nosso organismo, as moléculas não difundem só em função das suas características de difusão, mas porque algo de fora as obriga a retardar o

De acordo com Newton, a força que actua sobre qualquer objecto causa aceleração. Num meio viscoso, o movimento do objecto impedido por uma contra-força chamada **força de fricção** que proporcional à velocidade do objecto, mas em direcção oposta.

$$\text{Força de fricção} = -f v$$

$$f = \text{Coeficiente de fricção}$$

Atinge-se a chamada **velocidade terminal** quando a força que produz movimento é balanceada pelo coeficiente de fricção



seu movimento. Isto é, a interacção com o meio envolvente vai determinar que a velocidade de difusão não seja aquilo que é esperado mas sempre um valor inferior ao que é esperado.

Isto é devido a uma força que actua no sentido contrário: a força de fricção. Essa força de fricção, que no fundo corresponde ao choque do soluto com as moléculas envolventes, é directamente proporcional à velocidade terminal que as moléculas atingem. Isto é, elas atingem muito mais rapidamente a velocidade terminal, exactamente porque há uma força contrária que impede esse movimento da difusão. Logo, esta constante de proporcionalidade é designada por coeficiente de fricção e pode ser relacionado com o coeficiente de difusão.

Segundo Newton, a força é igual à massa vezes a aceleração para cada uma das partículas que produz o seu movimento. Porém, na realidade, o efeito que se observa é que a força que produz o movimento, é igual ao coeficiente de fricção (f) vezes a velocidade terminal (v) que ele atinge.

Num meio viscoso a velocidade terminal é rapidamente atingida, então é o coeficiente de fricção que determina quão rápido é o movimento da molécula sob acção de forças que actuam na sua difusão, sedimentação, electroforese ou outras medidas de transporte.

Embora segundo a lei de Newton - a força seja igual à massa \times a aceleração - para cada uma das partículas em solução, o efeito observado é que a força produtora do movimento é igual ao coeficiente de fricção (f) \times a velocidade terminal (v)

$$\text{Força} = f v$$

$$f = \frac{\text{força}}{\text{velocidade}} = \frac{\text{massa} \times \text{aceleração}}{\text{velocidade}} = \text{gs}^{-1}$$

Este parâmetro é crucial na determinação das propriedades moleculares e caracteriza a rapidez do movimento por acção de uma força, ou seja, quanto maior for o coeficiente de fricção, menor é a velocidade que ela atinge e informa-nos sobre o tamanho e forma das moléculas quando elas interagem no meio envolvente.

Através da equação de Einstein, o movimento de difusão é directamente relacionado com a energia que as partículas têm, isto é, com a temperatura (quanto maior a temperatura, maior a difusão).

Pode-se relacionar não só com aquilo que lhe provoca movimento, mas também com aquilo que lhe impede o movimento.

Assim, existe uma expressão que, por determinação de f , acaba por ser mais simples de determinar Δ de forma indirecta, em relação ao método da radioactividade.

Stokes relacionou o coeficiente de fricção das partículas com aquilo que obrigava as partículas a terem esse tal tratamento.

Já se sabe que as partículas que deveriam atingir por difusão uma velocidade muito elevada, acabam por atingir rapidamente a sua velocidade terminal, porque têm uma força (coeficiente de fricção) que impede esse movimento.

f – coeficiente de fricção

- ✓ é uma propriedade molecular
- ✓ caracteriza a rapidez do movimento da partícula por acção de uma força.
- ✓ quanto maior for f menor é a velocidade
- ✓ f informa sobre o tamanho e forma das moléculas e suas interacções com meio envolvente

Para uma solução de um líquido, a força de fricção exercida pelo solvente, afecta a difusão das moléculas de soluto. Einstein propôs a seguinte relação quantitativa para traduzir esse efeito

$$D = \frac{kT}{f}$$

Equação de Einstein

K- constante de Boltzmann = constante dos gases perfeitos/ n° de Avogadro

f - N s m^{-1}

De onde vem o coeficiente de fricção?

Vem do coeficiente de resistência que as partículas têm com o meio envolvente.

No fundo está relacionado com a viscosidade do meio. O coeficiente de fricção é função do meio que o envolve, da viscosidade desse meio (ou também poderá ser em função do tamanho da partícula) que vai fazer a partícula atingir, mais ou menos rapidamente, um determinado ponto.

$$f = 6\pi\eta r$$

EXEMPLO:

Se tiver uma molécula muito gorda que esteja num ambiente pouco viscoso, ela vai difundir mais rapidamente do que se estivesse num meio mais viscoso, ou seja, a velocidade terminal num ambiente mais viscoso, é muito mais rapidamente atingida se for num ambiente menos viscoso.

Stokes resolveu relacionar o coeficiente de fricção exactamente com o meio envolvendo:

Ou seja, pode-se determinar D não só em função da temperatura que o sistema possui, mas também em função da viscosidade e do raio das partículas (processo muito mais simples).

Logo, como é tabelado, e sabendo T, sabe-se o D (processo mais simples da determinação do coeficiente de difusão).

Porém, como o valor de D é como se fosse um valor fictício, não é verdadeiro como se o determinasse no sistema de coeficiente de difusão.

f – relacionado com o tamanho e forma da molécula. Para uma esfera ou uma molécula esférica de raio r, Stokes encontrou:

$$f = 6\pi\eta r$$

η - viscosidade do solvente

r - raio da molécula

Equação de Stokes

Assim poderemos relacionar....

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r}$$

Mede a energia térmica da molécula

PORQUÊ?

Porque os coeficientes de fricção são sempre muito experimentais, são sempre mais baixos que os coeficientes de fricção determinados pela equação de Stokes.

Se D e η forem conhecidos saberemos o valor do raio da molécula

Geralmente o valor de f calculado pela equação de Stokes é geralmente menor do que aquele que deriva da equação de Einstein porque:

- A molécula está solvatada (o raio aumenta). O raio não é um raio real, mas é aumentado devido à solvatação que a própria molécula tem, ou seja, a toda a ambiência iónica que a molécula tem.
- A molécula é não esférica. O tratamento matemático tem que ser feito para uma situação definida, logo o mais simples é admitir que as moléculas são esféricas mesmo muitas vezes não o sendo, a fim de determinar o raio.
- Ambas.

Isto faz com que os valores de f experimental sejam sempre menores do que o valor de f calculado pela equação de Stokes, afectando a equação de Einstein em que se determina a difusão das partículas.

Influência da forma da molécula no coeficiente de fricção

(NOTA: O coeficiente de difusão e o de fricção são muito utilizados pelos bioquímicos para caracterização das moléculas.)

EXEMPLO: das moléculas que existem no nosso organismo em função corporal, são raras as que têm forma esférica.

A maioria das moléculas tem forma de bastonetes ou formas totalmente distintas das de uma esfera.

Também são aplicados critérios de correcção na determinação de raio das partículas não esféricas, a fim de não alterar muito o valor do coeficiente de fricção (porém, cometem-se erros).

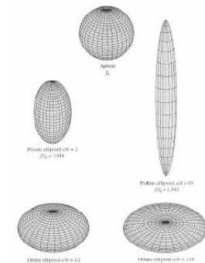


Table 10.2
Stokes (s), Perrin (P), and Scherer (S) shape parameters
for ellipsoids of revolution

Axis ratio	Perrin			Scherer		
	s	P	$P \times 10^{-3}$	s	P	$P \times 10^{-3}$
1	3.500	1000	2.07	3.500	1000	2.07
2	2.000	1000	2.15	2.000	1000	2.15
3	1.405	1112	2.26	1.405	1107	2.35
4	1.102	1182	2.38	1.102	1105	2.53
5	0.908	1250	2.51	0.908	1104	2.74
6	0.788	1314	2.65	0.787	1103	2.94
7	0.693	1375	2.79	0.693	1102	3.14
8	0.618	1433	2.93	0.618	1101	3.34
9	0.558	1488	3.07	0.558	1100	3.54
10	0.508	1541	3.21	0.508	1100	3.74
15	0.353	1784	3.78	0.353	1100	4.34
20	0.283	1996	4.24	0.283	1100	4.72
30	0.183	2550	5.78	0.183	1100	6.09
40	0.130	2860	6.98	0.130	1100	7.17
50	0.100	3100	7.84	0.100	1100	7.95
60	0.080	3300	8.54	0.080	1100	8.54
80	0.050	3800	10.50	0.050	1100	10.50
100	0.035	4200	12.00	0.035	1100	12.00
200	0.015	5700	16.00	0.015	1100	16.00

Note: P is calculated by using Equation 10.10; s and S are calculated as described in Chapter 12, see Equations 12.11 and 12.20.
Source: Peter H. A. Scherer, *Physical Properties of Polymers*, Academic Press (1981).

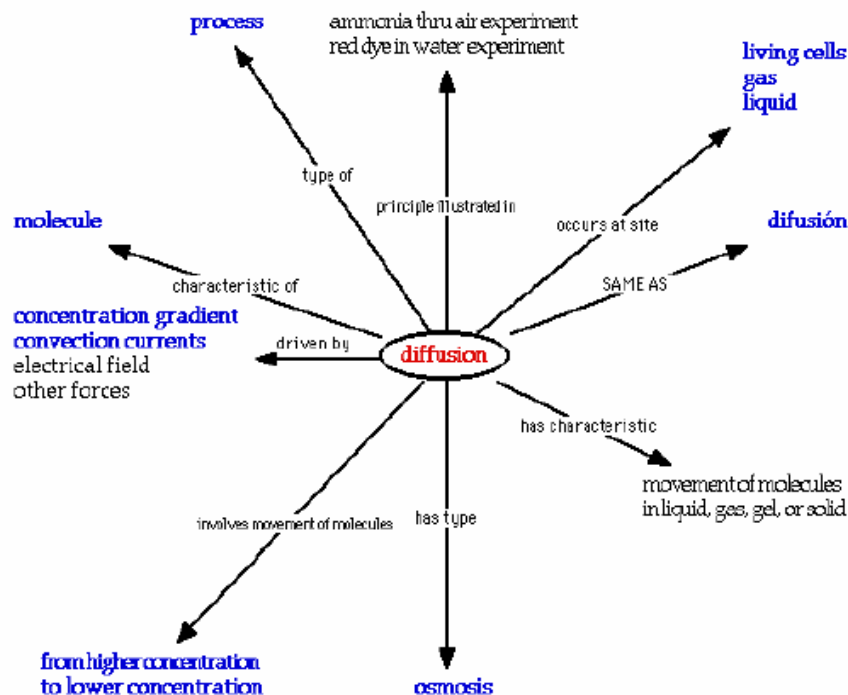
CONCLUSÃO:

A difusão é um processo de transporte que ocorre nas células vivas, nos ambientes gasosos ou nos líquidos tem o mesmo significado em termos de “anglofaction”(?) de diffusion.

É caracterizado pelo movimento das partículas quer de um líquido quer de um gás, gel ou mesmo de um sólido num sistema.

Origina um processo muito conhecido: a osmose. É o resultado do movimento das zonas de alta concentração para zonas de baixa concentração. E é derivado quer de gradientes de concentração, quer de campos eléctricos ou outras forças.

Em resumo....



Exercícios(a professora só usa exemplos bioquímicos)

Exercício: difusão

O coeficiente de difusão da ribonuclease A bovina (Rnase A) a 20 °C, em tampão diluído é:

$$D_{(Rnase A)} = 1,31 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$$

$$K = 1,380 \times 10^{-16} \text{ erg/K-molécula} \quad (1 \text{ erg} = 1 \text{ g m/s}^2)$$

a) Calcular o coeficiente de fricção

$$D = \frac{kT}{f} \Rightarrow f = \frac{kT}{D}$$

$$f = \frac{[(1,380 \times 10^{-16} \text{ g m/s}^2 \text{ K-molécula})(298 \text{ K})]}{1,31 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}}$$
$$f = 3,09 \times 10^{-8} \text{ g/s}$$

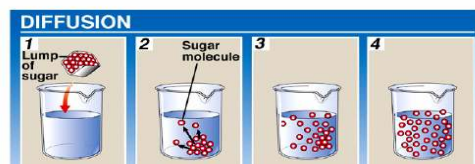
Assumindo que a proteína é uma esfera e sabendo que a viscosidade do tampão aquoso é aproximadamente igual à da água ($1,00 \times 10^{-2} \text{ g/s}^2 \text{ cm}$) a 20°C, calcule o raio hidrodinâmico da proteína:

$$f = 6\pi\eta r \Rightarrow r = \frac{f}{6\pi\eta}$$
$$r = \frac{(3,09 \times 10^{-8} \text{ g/s})}{[(6\pi)(1,00 \times 10^{-2} \text{ g/s}^2 \text{ cm})]}$$
$$r = 1,64 \times 10^{-7} \text{ cm}$$
$$r = 16,4 \text{ \AA}$$

Conclusão ex1: significa que num segundo movimentam-se $3,09 \times 10^{-8} \text{ g}$.

DIFUSÃO E OSMOSE

OSMOSE: dá origem ao transporte passivo no interior das células. Como já é sabido, para além da energia das moléculas, não é necessário outra energia extra.



Movimento das moléculas (ou pequenas partículas) num meio fluido (gás de uma região de elevada concentração para outra de menor concentração ou líquido)

TRANSPORTE PASSIVO

Ao fim de algum tempo, as moléculas de açúcar vão-se libertando e vão progredindo, neste caso na água. E há um fluxo de moléculas de uma zona de alta concentração para uma zona de menor concentração.

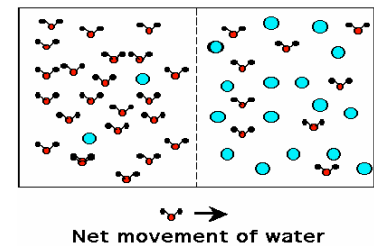
FACTORES QUE AFECTAM A DIFUSÃO

- **Tamanho da molécula** (as moléculas pequenas difundem mais rapidamente)
- **Densidade do meio** (a difusão é maior no ar do que na água)
- **Temperatura** (rapidez e velocidade de difusão aumentam com a temperatura)
- **Gradiente de concentração** (a difusão ocorre mais facilmente quanto maior é a diferença de concentração entre os dois meios)

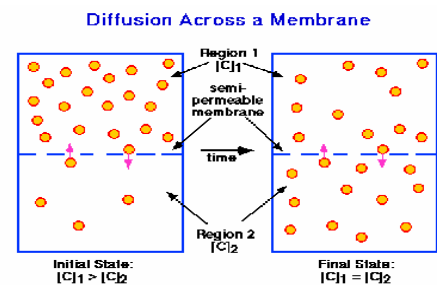
(que condiciona também a viscosidade)

CASOS ESPECIAIS DE DIFUSÃO E OSMOSE

OSMOSE- difusão de moléculas de água através de uma membrana semi-permeável. Sendo uma membrana selectiva que só deixa passar moléculas de determinado tamanho. As moléculas de água passam de uma zona de baixa concentração, para uma zona de alta concentração.

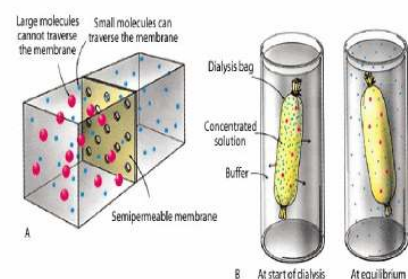


DIÁLISE- O fenómeno é derivado de difusão, mas neste caso há difusão de pequenas moléculas de soluto (dissolvidas em água) através de uma membrana semi-permeável.



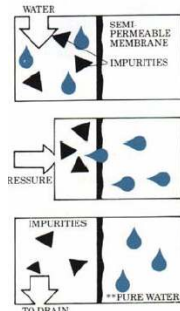
É o que se faz quando se está a “purificar” o sangue nos hemodialisados. Não se vai diluir o sangue destes, fazendo passar água no seu interior, mas pelo contrário, são as moléculas tóxicas que se vão acumulando durante os processos metabólicos, que saem por diálise através de uma membrana semi-permeável.

Os nossos rins também funcionam assim. Têm membranas semi-permeáveis que promovem as trocas para que os elementos passem para a urina que depois é expulsa.



(separação de macromoléculas)

OSMOSE REVERSA (processo muito mais eficiente)



Osmose – processo através do qual um líquido diluído difunde, através de uma membrana semi-permeável, para o interior de um líquido mais concentrado

Osmose reversa - processo reverso do anterior. Quando uma pressão é aplicada à água, esta é obrigada a atravessar a membrana semi-permeável, enquanto as impurezas se deslocam para dreno

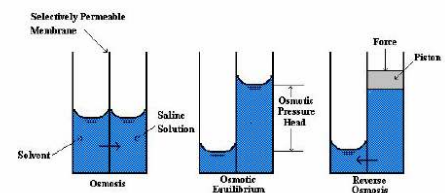
EXEMPLO: nos países árabes, toda a dessalinização da água é feita. Melhor processo para obter água pura.

ÁGUA MILIQUÉ- água com uma condutividade eléctrica muito baixa, usada para esterilização e manipulação de substâncias muito puras nos laboratórios de investigação e indústrias farmacêuticas.

A água miliqué é obtida por osmose reversa, porém o rendimento deste processo é muito baixo.

Ex: Nos países árabes, uma garrafa de água é muito mais cara que uma de vinho.

ILLUSTRATION OF OSMOSIS

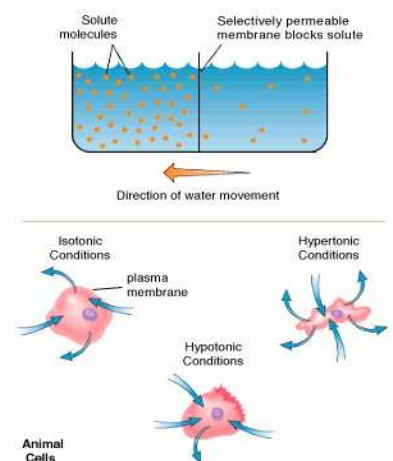


Remove 98% dos sólidos e 100% das partículas coloidais

SOLUÇÕES ISOTÓNICAS E HIPERTÓNICAS

No decorrer da difusão, podem acontecer três situações:

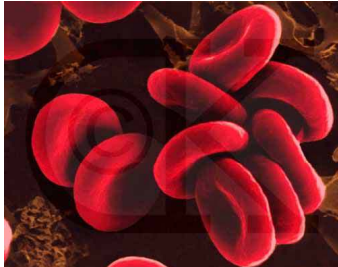
- Se a concentração do soluto (sal) é igual dos dois lados, a água movimenta-se de uma lado para outro e não acontece nada à célula. (meio isotónico)
- A concentração é menor no exterior do que no interior da célula, logo a água movimenta-se para o interior da célula. Meio hipotónico, a célula aumenta de tamanho, podendo rebentar.
- A concentração é maior no exterior do que no interior da célula, logo a água movimenta-se para o exterior da célula. Meio Hipertónico, a célula diminui de tamanho.



Ex: quando vamos para a água do mar, esta é mais concentrada que as nossas células e a água destas tem tendência a sair para atingir o equilíbrio.

EXEMPLO DE SOLUÇÕES SANGUÍNEAS

Solução de sangue isotónica-
glóbulos vermelhos intactos e perfeitos



Solução de sangue hipertónica-
glóbulos vermelhos ficam plasmolisados (diminuem de tamanho)



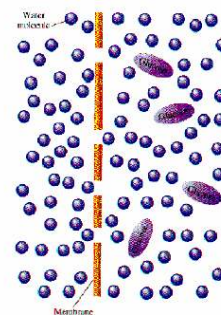
Solução de sangue hipotónica-
a água entra e o citoplasma exerce uma pressão de turgescência sobre a membrana, conduzindo ao rebentamento das células (lise celular). No caso dos glóbulos vermelhos, o fenómeno designa-se por hemólise.



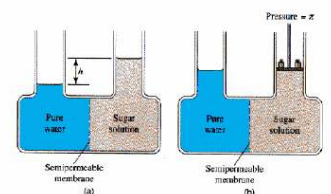
Daí as formulações injectáveis não poderem ter uma concentração qualquer. Têm que ter uma concentração em cloreto de sódio 0,9g/L, que corresponde a um ambiente isotónico. Caso contrário, pode provocar lesões do tipo em que as células ficam plasmolisadas ou quando aumentam de tamanho.

PRESSÃO OSMÓTICA

- Pressão directa da quantidade de molécula que atravessa a membrana semi-permeável
- Propriedade coligativa que depende do número de moléculas que estão envolvidas no processo de osmose
- É relacionada com a concentração e a massa molecular das partículas



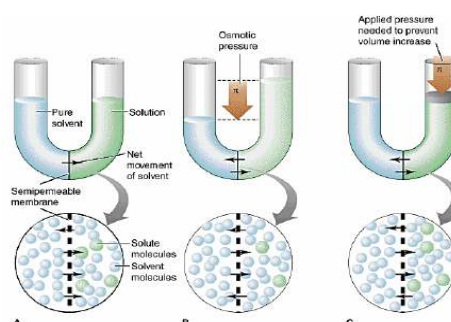
Membranas especiais só deixam atravessar o solvente



Pressão necessária para prevenir o fluxo osmótico através de uma membrana semi-permeável que separa duas soluções com diferentes concentrações de soluto.

A pressão osmótica é função directa do número de moles do soluto que existe num determinado volume de solução e, como esta variação se relaciona com o movimento aleatório, está relacionado com a temperatura.

Só que, na maioria das soluções moleculares, o movimento é muito lento porque as moléculas são grandes.



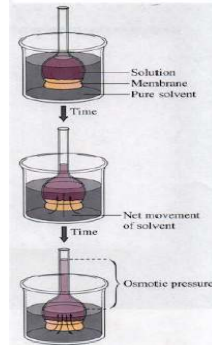
Pressão osmótica -II

$$\Pi = \frac{n_{\text{soluto}}}{V_{\text{solução}}} RT = MRT$$

π - pressão osmótica (N m^{-2} ou Pa); V-volume (m^3) da solução ocupada por n mol de soluto; R- const. Gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$); T- temp. absoluta (K)

SOLUÇÕES DILUÍDAS

Esta figura mostra como é que numa solução diluída, varia Π em função da concentração. Trata-se de um processo de calibração, determinar Π/t em função da massa molecular conhecida de proteínas. Depois, por interpolação de gráficos e calcular Π/t para uma amostra desconhecida. De seguida, basta determinar o valor de n .



Se w Kg de soluto é colocado em V m³ de solução e o peso molecular do soluto é desconhecido (M_r), então:

$$n = \frac{1000w}{M_n}$$
$$\Pi V = \frac{1000w}{M_n} \times RT$$

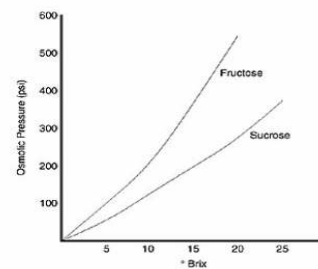
Como w/V é igual à concentração, então podemos escrever:

$$\frac{\Pi}{c} = \frac{RT}{M_n}$$

VARIAÇÃO DA PRESSÃO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO

Enquanto que numa solução diluída há uma proporcionalidade directa entre Π e a M e entre Π e c . No caso de se tratar das macromoléculas, a variação não é linear porque há interacções entre a molécula e o meio envolvente. A inclinação dá qual o grau de interacção que existe entre a molécula e o solvente. Esta interacção vai condicionar o movimento das partículas através da membrana semi-permeável.

Nesta situação, é incorrecto fazer calibrações de Π/t em função da massa molecular de proteínas macromoleculares e depois, por interpolação gráfica, calcular o n de uma proteína determinada.



Pressão osmótica de diferentes compostos para diferentes valores de concentração

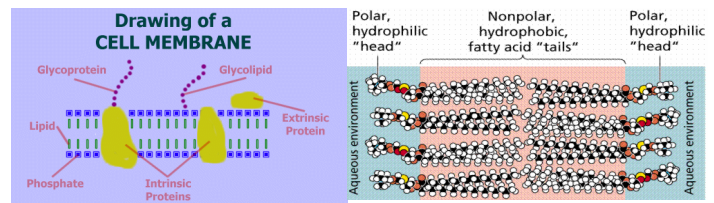
SOLUÇÕES DE MACROMOLÉCULAS

O que se pode fazer é calcular Π/t em função da T para vários padrões e extrapolar uma concentração diluída. Logo, o limite para que tende a recta, dá o valor de M_n , já que quando as moléculas não interagem muito com o solvente, há uma dependência linear entre a pressão osmótica e a concentração.

O mesmo não se verifica se há interacções moleculares entre o soluto e o solvente. Para calcular o valor de M , não se pode usar o mesmo processo, pois a recta não é linear. Neste caso, a melhor forma para calcular M é extrapolar uma situação limite e com esse valor limite, calcula-se o valor de M .

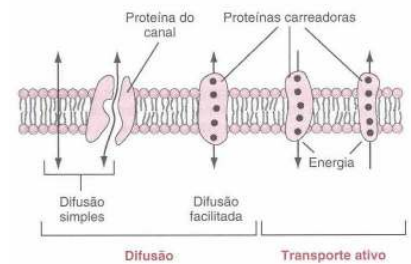
TRANSPORTE ATRAVÉS DA MEMBRANA

A membrana das células é constituída por fosfolípidos numa forma de bicamada. Encaixados entre os fosfolípidos estão as proteínas intrínsecas que têm ligado a elas os glicolípidos. A função deles é reconhecer outras moléculas que possam estar por ali perto. Existem também proteínas extracelulares e existe o colesterol que se situa no meio disto e funciona



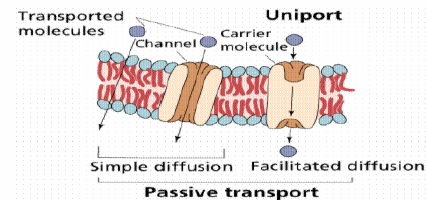
como um agente tensioactivo, porque, dado que há uma zona de grande hidrofília e uma de grande lipofília, ele tem de manter este sistema perfeitamente agregado fazendo com que estas zonas de polaridade se consigam manter em conjunto.

O transporte das drogas nas membranas pode fazer-se de várias formas: ou por difusão ou por transporte activo. Tratando-se da difusão, não é necessária energia para que ocorra o transporte. No transporte activo é preciso essa energia que provém das moléculas de ATP e que facilitam a entrada de substâncias no interior da célula.



Dentro da difusão, há a difusão simples e a difusão facilitada. Na difusão simples, moléculas muito pequenas ou iões é que conseguem atravessar a célula, através destes canais (moléculas transportadoras) que não têm diâmetro superior a 8Å. Por isso, o transporte é feito por variação da concentração no exterior e interior da célula, e há uma migração dessas substâncias.

Sendo a molécula um pouco maior, já não é possível essa difusão simples, tem de haver alguma coisa para facilitar a sua passagem através da célula. Já que a capacidade das trocas ou qualquer outro tipo de nutrientes de atravessar a célula, está confinada não só pela sua forma e tamanho molecular, mas também pela sua maior ou menor solubilização neste ambiente que tem características hidrófilas e lipófilas.



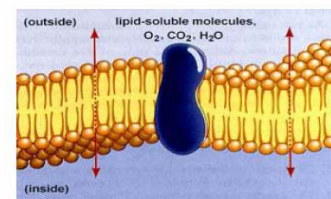
Não necessitam de energia da célula

Exemplos: difusão de oxigénio e dióxido de carbono, osmose da água e difusão facilitada

Exemplos de substâncias que não necessitam da tal energia para serem transportadas e podem passar ou por transporte passivo ou por difusão facilitada, são o CO_2 e O_2 , a água por osmose e difusão facilitada.

DIFUSÃO SIMPLES E DIFUSÃO FACILITADA

Difusão simples	Difusão facilitada
O movimento cinético molecular das moléculas ou dos iões ocorre através de aberturas da membrana ou através de espaços intermoleculares sem a necessidade da ligação com a proteína transportadora da membrana	O movimento cinético molecular das moléculas ou dos iões ocorre através de aberturas da membrana ou através de espaços intermoleculares necessitando da interacção com uma proteína transportadora das moléculas ou iões.



Moléculas pequenas atravessam a membrana celular por difusão (osmose).

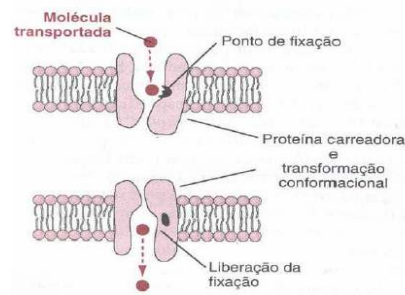
CO_2 produzido pelas células – resultado do processo metabólico celular. Maior gradiente de concentração no interior da célula.

Como o processo metabólico necessita de O_2 , há fluxo de oxigénio para o interior da célula

Genericamente, as diferenças entre a difusão simples e a facilitada é que, na simples, não é preciso nenhuma molécula transportadora; na facilitada é necessário haver um transporte através de uma proteína.

Como é que o O_2 acaba por entrar na célula através da tal difusão passiva? Há formação de CO_2 no processo metabólico no interior da célula. Para haver formação do CO_2 , tem de haver O_2 e, tal como na reacção química, havendo gasto de O_2 para a formação de CO_2 , faz com que a sua concentração diminua. Assim, é favorecida a sua entrada porque a concentração no meio extracelular é muito elevada.

Um caso curioso de transporte por difusão facilitada é o da glucose e dos aminoácidos. Foi descoberta uma proteína que favorecia a passagem de substâncias, especialmente da glucose. Essa substância é naturalmente a insulina, que tem como função dar a mão à glucose para que o transporte seja facilitado, e provoca um aumento de velocidade de difusão bastante razoável.



Explos:

Transporte de glucose

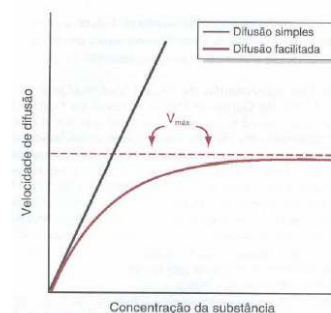
Transporte de aminoácidos

Insulina aumenta a velocidade da difusão facilitada da glucose cerca de 10 a 20 vezes

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DA SUBSTÂNCIA SOBRE A VELOCIDADE DE DIFUSÃO

O processo de difusão das moléculas pode ser comparado ao que se passa numa reacção enzimática. Tem de haver primeiro uma adsorção do ião (ou de uma molécula) que vai ser transportada a essas proteínas transportadoras. Logo a seguir, há a difusão e depois há a libertação para o interior da célula.

Significa então que tem de haver um local específico para que haja a ligação. Depois do transporte, ao longo do tempo e à medida que a concentração da substância que vai ser transportada vai aumentando, vai-se chegar a um ponto em que há saturação e aí não adianta haver mais excesso no exterior das células pois já não se verifica transporte nenhum.



- ☑ Existe um local específico de ligação para o soluto
- ☑ O carregador é saturável \Rightarrow taxa máxima de transporte (V_{max})
- ☑ Existe uma constante de ligação (K_m) para o soluto \Rightarrow todo o sistema apresenta um K_m
- ☑ Inibidores competitivos estruturalmente semelhantes bloqueiam o transporte

Esse transporte é comparável a uma reacção química e uma reacção química está dependente do equilíbrio que se estabelece no interior e no exterior entre os reagentes e os produtos. E portanto há um valor de constante para uma ligação que determina a velocidade dessa reacção.

É preciso contar que há inibidores competitivos que são estruturalmente semelhantes e vão impedir que esse transporte se efectue. Onde existem, esses inibidores competitivos, vão condicionar esse valor e assim condicionar este princípio da curva, esta velocidade de transporte. E por essas razões, muitas vezes quando se fazem estudos farmacocinéticos (diz respeito à metabolização da droga) e farmacodinâmicos (reacção da droga ao paciente) tem que ser levado em linha de conta, as interacções medicamentosas que possam ocorrer. Isto porque muitas vezes, o que se pensa é que uma droga está a ser assimilada por uma membrana, por um determinado alvo, e o que acontece é que existem na formulação compostos estruturalmente semelhantes. Assim, nunca iremos ter uma quantidade de substância absorvida em função da concentração que lá chega; nunca iremos ter o aumento da extensão que aconteceria se não tivesse nada à volta a impedir esse transporte.

O controlo dos níveis séricos é importante para perceber até que ponto essa reacção se faz nesta extensão representada.

Quando uma droga vai ser adsorvida/absorvida para uma barreira celular, uma membrana celular, podemos contar com várias etapas. Primeiro ela tem de solubilizar num meio aquoso (não esquecer que os

fosfolípidos têm os fosfatos todos virados para cima, são extremamente hidrófilos, portanto a droga tem primeiro de solubilizar.

Primeiro tem de se difundir até esse local, depois tem de se solubilizar e depois tem de se difundir através da barreira celular. Depois, entretanto, tem de se difundir através desse meio intracelular.

Significa então que, em todo este processo, aquilo que mais condiciona o transporte das moléculas não é propriamente a difusão, nem a solubilização no meio extracelular, mas sim a difusão dentro da bicamada.

DIFUSÃO ATRAVÉS DAS MEMBRANAS

APLICAÇÃO DA LEI DE FICK

Aqui está representada a bicamada, o grupo fosfato e o grupo dos hidrocarbonetos e o que podemos ver é que a concentração não vai ser igual nas diferentes zonas.

Significa que a velocidade de difusão na bicamada (v), é directamente proporcional ao coeficiente de difusão da droga (D_m), à área de difusão própria droga (A), e naturalmente à variação da concentração em função da distância que ela tem de percorrer ($\Delta C/d$).

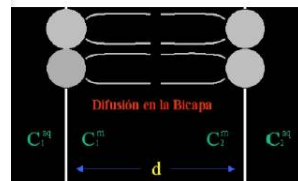
A distância (d) é determinada pelo comprimento entre a parte extracelular e a parte intracelular.

Naturalmente que este coeficiente de difusão não é semelhante ao coeficiente de difusão de uma partícula qualquer num meio perfeitamente livre tem, ou que um gás tem através de um lípido ou coisa do género. Este coeficiente de difusão está relacionado com a solubilização da droga num meio celular. Vai depender do coeficiente de partilha da droga entre um meio água/óleo.

Como já foi referido, esse coeficiente de difusão está relacionado com uma característica que é o coeficiente de partilha.

Nós só podemos ter a função da concentração da droga que está no interior e no exterior da célula. É impossível saber qual a concentração no exterior, na camada externa, na camada interna e no interior da célula. Para isso, servimo-nos de uma relação para determinar essa velocidade, que no fundo relaciona a concentração das espécies no interior da membrana, com a sua concentração na água, no meio aquoso que banha a membrana.

Esse coeficiente de partilha/partição, dita que se o soluto for polar, o seu valor é negativo, isto é, drogas com características hidrófilicas têm o valor de coeficiente de partilha negativo, o que



Suponha um soluto que passa através da bicamada (bicapa) de espessura " d " e área " A ", desde um compartimento onde se encontra com uma concentração C_1 , até outro onde a concentração é C_2 .

A difusão do soluto (fluxo) na bicamada é caracterizado por:

$$v = D_m A \Delta C/d = -D_m A (C_{2m} - C_{1m}) = D_m A (C_{1m} - C_{2m})$$

C_{1m} = concentração do soluto na zona de maior concentração da membrana

C_{2m} = concentração do soluto na zona de menor concentração da membrana

d = espessura da membrana

Experimentalmente só se conhece a concentração do soluto no seio da solução. Por isso é necessário relacionar a concentração do soluto nos dois compartimentos aquosos C e a sua concentração na região imediatamente adjacente, dentro da membrana (C_m)

Esta relação é dada pelo coeficiente de partilha ou de partição membrana/água

$$\beta = \frac{C_{memb}}{C_{agua}}$$

β -Correlaciona a lipossolubilidade do soluto

$\beta < 1$ – soluto polar

$\beta > 1$ – soluto hidrofóbico

$$\Delta C_m = C_{1m} - C_{2m}$$

$$\Delta C_m = \beta C_{1m} - \beta C_{2m}$$

$$\Delta C = \beta (C_1 - C_2)$$

Introduzindo na expressão anterior

$$v = D_m A \Delta C/d = -D_m A (C_{2m} - C_{1m}) = D_m A (C_{1m} - C_{2m})$$

$$v = A D_m \beta (C_1 - C_2) / d$$

$$\frac{v}{A} = D_m \beta \frac{C_1 - C_2}{d} = J(\text{fluxo})$$

não acontece com drogas hidrofóbicas ou lipofílicas, que têm coeficiente de partilha positivo.

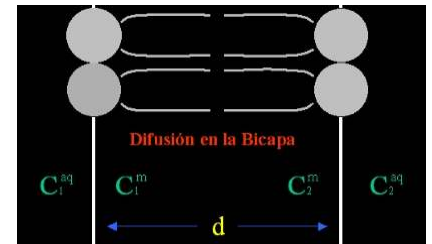
Nesta altura, estamos em condições de aplicar a lei de Fick ao transporte das moléculas através das células. A primeira lei de Fick diz-nos que o fluxo é directamente proporcional à variação da concentração vs distância que ela percorre.

Sabe-se então que a variação da concentração das espécies na membrana é igual à variação da concentração neste esquema visto anteriormente (2 páginas atrás).

A concentração em 1 é superior que em 2. A concentração em C_1^m e C_2^m é diferente.

A variação da concentração é igual à diferença entre a concentração em 1 e a concentração em 2, mas cada uma delas afectada pelo correspondente coeficiente de partilha. Então é possível na expressão anterior, substituir, admitindo que a velocidade não depende só da área que as moléculas têm de percorrer e do tal coeficiente de difusão na membrana, mas também do coeficiente de partilha e da variação da concentração em função da distância percorrida. Esta é a expressão de Fick que determina a velocidade das trocas através da membrana.

Nas substâncias extremamente lipófilas a velocidade vai ser mais lenta. Partículas que tenham uma área de difusão muito elevada, vão determinar uma velocidade mais lenta de difusão. E quando a variação da concentração, no ambiente extra e intracelular, é pequena, também a velocidade de transporte acaba por ser pequena.



PERMEABILIDADE (P)

Como se relaciona a difusão em função das características da própria molécula?

Se fizer um gráfico de fluxo em função da concentração, vai-se obter ter uma linha recta cujo declive dá aquilo a que se chama o coeficiente de permeabilidade (cm/s). Esse declive que me vai dar o coeficiente de permeabilidade está relacionado com o coeficiente de difusão na membrana, com o coeficiente de partilha membrana/água, e com a espessura da membrana.

O gráfico de fluxo *versus* diferença de concentração é uma linha recta cujo declive se designa por **coeficiente de permeabilidade**, p , (cm/seg)

$$J = D_m \beta \frac{C_1 - C_2}{d} \quad \text{ou} \quad J = P(C_1 - C_2)$$

$$\text{donde} \quad P = \frac{D_m \beta}{d}$$

O **coeficiente de permeabilidade** depende:

- ☑ do coeficiente de difusão na membrana (D_m)
- ☑ do coeficiente de partição, membrana/água (β)
- ☑ da espessura da membrana

DIFUSÃO SIMPLES: MEDIDA EXPERIMENTAL DA PERMEABILIDADE


Como é possível determinar esse coeficiente de permeabilidade?

Tenho de medir o fluxo unidireccional de entrada e saída na membrana.

(Enquanto que na difusão quer simples quer facilitada, o fluxo pode ser bidireccional, no caso da difusão que envolve energia, uma vez a molécula “em branco” não consegue sair pois não há energia suficiente para a fazer saltar para o outro lado).

O fluxo de entrada é directamente proporcional à concentração exterior (para isso tenho de admitir que a concentração no interior da membrana é nula). O de saída é directamente proporcional à concentração do seu interior (tenho de admitir que a concentração exterior é 0).

1- Medir o fluxo unidireccional de entrada ou de saída na membrana



Fluxo unidireccional de entrada ($C_{int} = 0$) : $J_{ext \rightarrow int} = P C_{ext}$

Fluxo unidireccional de saída ($C_{ext} = 0$) : $J_{int \rightarrow ext} = P C_{int}$

Incubar células com o soluto no meio externo; medir o seu aparecimento no compartimento intracelular

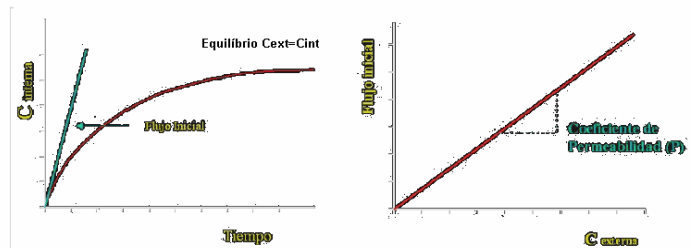
Fazer gráfico de $c = (f)$ tempo \Rightarrow calcular declive (fluxo inicial)

Carregar previamente as células com um soluto; substituir o meio externo e medir o aparecimento no compartimento extra celular

Fazer gráfico de $c = (f)$ tempo \Rightarrow calcular declive

2- Repetir a determinação do fluxo inicial para concentrações distintas de substrato

3- Fazer o gráfico dos fluxos iniciais determinados versus as concentrações de substrato e calcular o declive do gráfico



Para calcular o fluxo unidireccional de entrada, temos que incubar as células com um soluto num determinado meio e medir a quantidade dessa espécie que apareceu no compartimento intracelular. Depois tem-se só de fazer o gráfico de P , dessa concentração que aparece no ambiente intracelular, (10%), e calcular o declive.

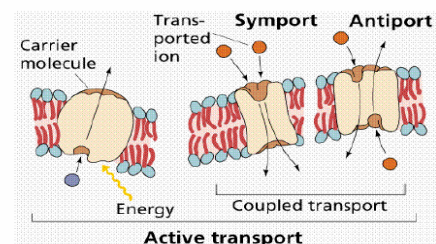
No caso de querer optar por medir o fluxo de saída da solução, carrega-se as células previamente com um determinado soluto, vai-se substituindo o meio externo e vai-se medindo o aparecimento extracelular. No final acabamos por fazer um gráfico também da concentração vs tempo para poder calcular o declive e daí deduzir o coeficiente da permeabilidade.

Isto é feito repetindo a determinação da experiência, calculando o fluxo inicial/fluxo bruto para concentrações distintas do substrato e depois, para esses valores de fluxo, fazer um gráfico de fluxo vs concentração de substrato, calcula-se a recta e deduz-se o declive que dá o coeficiente de permeabilidade.

TRANSPORTE ACTIVO (BOMBA DE SÓDIO E POTÁSSIO)

No transporte activo tem de haver fornecimento de energia sobre a forma de ATP. Um exemplo de transporte activo é aquele que se processa para grandes moléculas.

São moléculas que normalmente não são lipídicas e um bom exemplo é o da bomba de sódio/potássio ao nível, por exemplo, do coração. Neste



Necessita que a célula forneça energia (ATP) à célula

Explos: transporte de grandes moléculas (não lipídicas solúveis); bomba de sódio-potássio; bomba de cálcio, etc...

caso, as células deita três Na^+ para o exterior, envolvendo os mecanismos energéticos e recupera dois iões K^+ , isto significa que tem de haver sempre um excesso de potássio para haver esta troca e a electroneutralidade estar assegurada.

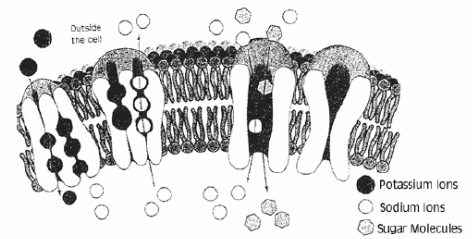
Isto quer dizer que no exterior da célula, a concentração de potássio tem de ser muito maior que a concentração de iões sódio porque o processo se faz de 3 para 1.

*

Já se falou da difusão como um transporte de moléculas e, através dela, pode deduzir-se esses parâmetros moleculares (peso, massa, forma da partícula).

Falou-se da pressão osmótica como uma das propriedades coligativas e que permite determinar a massa molecular das substâncias. E outro fenómeno de transporte que foi falado foi a sedimentação e, mais tarde, a electroforése.

Neste tipo de transporte as células usam energia porque as substâncias movem-se contra um gradiente de concentração



A célula bombeia para o exterior 3 iões sódio e recupera 2 iões potássio

SEDIMENTAÇÃO

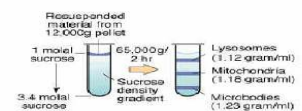
FORÇAS ENVOLVIDAS

Na sedimentação, o movimento da partícula faz-se através de um campo centrífugo e é uma técnica de excelência, não só para preparar mas também para purificar e analisar sobretudo substâncias biológicas.

Espécies celulares do tipo proteico, ácidos nucleicos, cromossomas e mitocôndrias.

Sedimentação – movimento de uma partícula por acção de um campo centrífugo

Técnica usada para
separar
purificar
analisar



.....espécies celulares (proteínas, ácidos nucleicos, cromossomas, mitocôndrias)
.....polímeros

* “Já agora, por causa disso, vou contar uma experiência pessoal que sucedeu e demonstra bem que não é possível viver sem um excesso de K^+ no exterior da célula para poder promover este bombeamento, e de uma forma natural.

Aqui há dois anos, o meu pai sentiu-se mal. Ele estava a fazer um tratamento aos olhos em que o oftalmologista não tinha uma visão conjunta do corpo humano e então deu-lhe um medicamento em que as reacções externas eram de apatia, de estado de confusão. Para mim, meteu-me um bocado confusão por ter apatia meramente por inoculação de umas pequenas gotas que eram para o tratamento dos olhos.

Passado algum tempo, ele começou a sentir-se mal e suspeitou-se de uma oclusão intestinal e foi operado. Abriram-no e fecharam-no e o tratamento foi um comprimido de cloreto de potássio. Por uma razão muito simples, porque o médico se esqueceu de que o medicamento que mandou tomar, competia inibitoriamente com o potássio ao nível das células. O que aconteceu foi que lhe baixou de tal forma os níveis de potássio no interior da célula que o peristaltismo intestinal parou. E ele não funciona até haver este gradiente potencial eléctrico que é fornecido pelo sódio e pelo potássio. E a forma de curar foi colocar no exterior da célula, uma concentração brutal de potássio para que, por difusão, podermos passar dois iões de sódio para entrar um de potássio.

Isto, só para dar uma ideia de que não se deve brincar com as interacções medicamentosas, porque elas existem exactamente por mecanismos deste tipo.

Em farmacêutica vamos estar aptos a prevenir os doentes deste tipo de consequências e o porquê dessas consequências.”

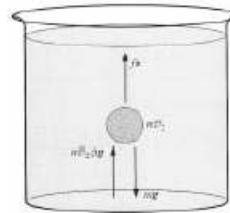
SOB A ACÇÃO DE UM CAMPO GRAVITACIONAL

Consiste em colocar uma substância suspensa num tubo com determinadas características. Colocá-lo a rodar sobre um campo centrífugo extremamente elevado, e, conforme o peso e a forma da partícula, vai haver deposição a tempos diferentes dessas mesmas partículas. Por acção do campo gravítico normal, só substâncias muito pesadas é que sedimentam. Partículas deste tipo necessitam de um campo centrífugo mais elevado.

Então, quando não existe nenhuma força externa para além da gravidade de uma partícula colocada num meio onde está dispersa, sedimenta porquê?

Sedimenta devido ao seu peso, e o seu peso está relacionado com a sua massa e com a acção do campo gravítico normal, mas há algo que a faz ou que a impede de sedimentar, que é a impulsão. E essa impulsão é uma força contrária à que determina a queda da partícula e está relacionada com a massa da partícula (m), com o volume efectivo da partícula (é o volume da partícula menos o de todo o ambiente que a cerca). Acontece que nas partículas, por vezes, o seu volume real não coincide com o volume efectivo e com a densidade da partícula. Ao fim de algum tempo, quando essas duas forças se equilibram, a partícula atinge a sua velocidade terminal e deposita num determinado ponto deste copo. (pode depositar em cima ou cair)

A força total que provoca esta queda, é uma associação destas duas forças e é igual ao peso menos a força de impulsão, o que nos dita que a força que era da partícula estava relacionada com a massa, pondo mg em evidência, com o volume efectivo das partículas, a densidade do meio que a cerca, e a aceleração da gravidade.



Peso: mg

$\Rightarrow m$ = massa da partícula sedimentada

Força de impulsão: $-m \bar{v} \rho$

$\Rightarrow \rho$ = densidade do fluido

$\Rightarrow m \bar{v}$ = volume efectivo da partícula

$$F = mg - m \bar{v} \rho g = m(1 - \bar{v} \rho)g$$

Naturalmente que, quando se promove uma força gravitacional externa, há ainda outra força que me impede o movimento, isto é, o atrito da molécula com o meio que a envolve também vai determinar uma maior queda, uma queda mais rápida ou mais lenta, de acordo com a força que se imprime para a sua sedimentação.

A força de atrito é igual ao coeficiente de fricção da partícula vezes a velocidade de queda da partícula como foi dito anteriormente.

Então, no equilíbrio, tem-se de contar também com este impedimento, desta força que faz com que a partícula não caia à velocidade desejada.

Quando se iguala a força de atrito à força total, fica-se a saber exactamente qual é a velocidade de queda da partícula em função dos parâmetros moleculares mas também em função dos parâmetros que têm a ver com o equipamento ou com as condições experimentais em que é feito o ensaio.

Força de atrito: $F = f v$

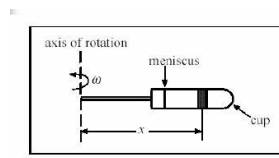
No equilíbrio as forças igualam-se:

$$f v = m(1 - \bar{v} \rho)g$$

$$v = \frac{m(1 - \bar{v} \rho)g}{f}$$

POR ACÇÃO DE UM CAMPO CENTRÍFUGO

À separação numa centrífuga, é igual à velocidade angular (w^2) vezes a distância desde o centro de rotação (x) até ao local onde a partícula se deposita. Então, podemos substituir g na expressão anterior, pela rotação que a centrífuga me dá, ou pela força centrífuga que ela me dá que é igual a w^2x , sendo w expresso em rad/seg habitualmente.

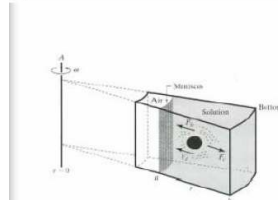


$$g = \omega^2 x$$

w = velocidade angular da centrífuga

$[w]$ = rad/seg

x = distância desde o centro de rotação



$$v = \frac{m(1 - \bar{v}\rho)\omega^2 x}{f}$$

VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO

■ A equação que exprime a velocidade de sedimentação diz-nos:

- ☞ quanto maior a massa da partícula, mais lento é o seu movimento num campo centrífugo.
- ☞ quanto mais densa a partícula (menor for \bar{v}) mais rápido é movimento
- ☞ quanto mais densa a solução, mais lento é o movimento
- ☞ quanto maior for o coeficiente de fricção (factores tais como viscosidade, forma da partícula, etc, influenciam este parâmetro) mais lento é o movimento da partícula.
- ☞ a velocidade da partícula é zero quando a densidade da solução é superior à densidade da partícula
- ☞ quanto maior for a força centrífuga ($\omega^2 r$) mais rapidamente a partícula sedimenta.

A equação anterior, naturalmente, diz-nos que quanto maior é a massa de partícula, mais lento é o movimento para um determinado campo centrífugo.

Se ela é muito densa, o seu volume específico é baixo e o movimento é rápido.

Quanto mais densa é a solução de suporte da partícula, mais lento é o movimento porque maior é o atrito e maior é a força de impulsão.

Quanto maior for o coeficiente de fricção, mais lento é o movimento da partícula.

A velocidade torna-se igual a 0, quando a densidade da solução é superior à densidade das partículas. Isto é, quando a densidade do meio que a envolve, quando a força de impulsão é maior que o próprio peso e o coeficiente de fricção. Nesta altura, a partícula fica a uma determinada distância do eixo de um tubo.

Se a força centrífuga for elevada comparativamente com outra menos elevada, com certeza que mais rapidamente a partícula se deposita.

Então, admitindo um campo centrífugo normal, a partícula é acelerada até que a força centrífuga esteja balanceada não só pela densidade, pela massa, pela força de impulsão, pelo peso do corpo, mas também pela força de fricção.

COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO

A forma de quantificar esta relação é através do chamado coeficiente de sedimentação. No fundo, o significado físico é a relação entre a velocidade de sedimentação que as partículas têm vs a aceleração que lhes é imprimida.

E esse coeficiente de sedimentação está relacionado não só com estes parâmetros moleculares (com o peso e a força de impulsão da partícula) mas também com o coeficiente de sedimentação.

Então, este parâmetro físico pode servir para caracterizar uma determinada molécula. Se souber o valor dele, cada partícula com uma massa determinada, com a densidade determinada, com um volume específico determinado, terá um e só um coeficiente de sedimentação.

Mas, tal como a densidade de outros parâmetros, tal como o poder rotatório específico, eu só posso fazer essa comparação se considerar este valor de s para determinar o valor de referência, isto é, quando considero que s é determinado em condições padrão de temperatura e o solvente é água. Nessa altura, o coeficiente de sedimentação, representa-se desta forma e a unidade que lhe é característica é o $S_{20,w}$ (Svedberg- senhor que estudou este processo).

Num campo centrífugo, a partícula será acelerada até que a **força centrífuga** seja balanceada pela **força de fricção**.

$$s = \frac{v}{\text{aceleração}} = \frac{m(1 - \bar{v}\rho)}{f}$$

$$[s] = \frac{\text{cm} / \text{s}}{\text{cm} / \text{s}^2} = \text{s}$$

Como s depende das propriedades da solução, os valores medidos de s , devem ser convertidos às condições padrão, (temperatura é 20°C e o solvente é a água) (para poderem ser comparáveis para diferentes moléculas)

$S_{20,w}$ (Svedberg)

1s = 10⁻¹³segundos

FACTORES DE QUE DEPENDE O COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO

Quando o valor de s é calculado em condições muito específicas, ele pode servir para caracterizar não só o tamanho e a forma da molécula, como também o seu peso. Na medida em que s é sensível à temperatura, ao pH e à concentração, devemos fazer para poder fazer uma comparação entre essas partículas diferentes converter o valor de s de diferentes medidas para as condições padrão. Podemos concluir que, se dois solventes dão valores muito diferentes de coeficiente de sedimentação, a molécula tem diferentes conformações.

S é sensível à temperatura, pH e concentração

- Para comparar s resultante de diferentes medidas

-Converter s aos valores padrão (água pura a 20°C – $S_{20,w}$)

-Se dois solventes dão valores muito diferentes de $S_{20,w}$, a molécula tem diferentes conformações nos dois solventes

TABLE 5.3 SOME SEDIMENTATION AND DIFFUSION DATA

Substance	$s_{20,w}^0 \times 10^{13}$ (sec)	$D_{20,w}^0 \times 10^5$ (cm ² /sec)	\bar{v}_2 (cm ³ /g)	$M_{r,0}$
Lipase	1.14	14.48	0.732	6200
Lipozyme	1.91	11.20	0.705	14,400
Serum albumin	4.31	5.94	0.754	66,000
Catalase	11.5	4.10	0.756	230,000
Fibrinogen	7.9	2.02	0.706	330,000
Urease	18.6	3.46	0.730	483,000
Homocystin (small)	105.8	1.04	0.727	8,950,000
Hasty stant virus	152	1.15	0.740	10,700,000

Most of these, and many other data, are listed in G. Fisman (1976).

- S aumenta com o peso molecular
- Moléculas altamente assimétricas têm valores de s mais baixos do que moléculas globulares

Nesta tabela, o valor de s aumenta com o peso molecular e moléculas com uma determinada assimetria, têm valor de s mais baixo do que moléculas redondinhas, globulares. Portanto, daqui se deduz que s também serve para determinar a forma da partícula.

COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO E MASSA MOLECULAR: MASSA MOLECULAR ABSOLUTA

Como posso relacionar o coeficiente de sedimentação com a massa molecular da substância? (Aqui sim, com a massa molecular absoluta da substância, porque iremos ver mais adiante que uma forma de transporte que também permite determinar a massa molecular da substância que é a viscosidade, não dá um valor absoluto mas sim um valor relativo).

Sabe-se através equação de Einstein que o coeficiente de fricção se relaciona com o coeficiente de difusão e com a tal energia que produz os movimentos de difusão, da seguinte forma: sabendo anteriormente que s se relaciona com uma força de impulsão e peso das partículas e coeficiente de fricção da forma como aqui está indicado, e substitui-se o f pelo kT/D .

Então, chegamos a uma expressão que relaciona o valor do peso molecular da partícula com o valor do coeficiente de sedimentação e com todos esses parâmetros que podem ser facilmente determinados.

$$f = \frac{kT}{D}$$
$$s = \frac{m(1-\bar{v}\rho)}{f} \quad \Rightarrow \quad s = \frac{m(1-\bar{v}\rho)}{\frac{kT}{D}} \quad \Rightarrow \quad s = \frac{D}{kT} m(1-\bar{v}\rho)$$
$$M = N_0 m$$
$$s = \frac{D}{kT} \times \frac{M}{N_0} m(1-\bar{v}\rho)$$
$$R = N_0 k$$

$$M = \frac{RTs}{D(1-\bar{v}\rho)}$$

COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO: SIGNIFICADO

O coeficiente de sedimentação é a distância em *cm* percorrida pela molécula, quando durante 1 segundo, eu aplico uma força centrífuga de 10^{-2} N/kg e a molécula está suspensa num solvente que é a água, a uma temperatura de 293K. Daí, s dá-nos informações sobre as propriedades moleculares da molécula (massa, volume específico e da sua forma) e das propriedades da solução (densidade e viscosidade, já que f depende de η).

O coeficiente de sedimentação é a distância, em *cm*, percorrida pela molécula, durante 1 segundo, sob efeito de uma força de 10^{-2} N kg⁻¹, no solvente água, a 293 K

S depende:

a) Propriedades moleculares da molécula.

⇒ m - massa molecular

⇒ \bar{v} - volume específico parcial

⇒ f - forma da molécula

b) Propriedades da solução.

⇒ ρ - densidade

⇒ η - viscosidade (porque f depende de η)

MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO

Os métodos habituais para determinar o coeficiente de sedimentação são: o método de velocidade de sedimentação, que dá indicações sobre o hidrodinamismo das moléculas. Para procedermos a esta determinação por este método, temos de ter conhecimento quer de s , quer de D e nalguns casos da massa molecular.

Muitas vezes substitui-se este método por outro mais fraco porque embora seja mais lento, acaba por ser mais prático já que não é necessário saber o valor do coeficiente de sedimentação.

⇒ **Método da velocidade de sedimentação** (fornece informação hidrodinâmica sobre as moléculas em solução)

⇒ Os parâmetros experimentalmente determinados incluem o coeficiente de sedimentação, s , a constante de difusão, D , e em alguns casos, a massa molecular, M . Se a massa molecular é conhecida, o coeficiente de sedimentação pode ser usado para obter uma estimativa da forma molecular da molécula em solução

⇒ Usado para grandes moléculas que difundem lentamente.

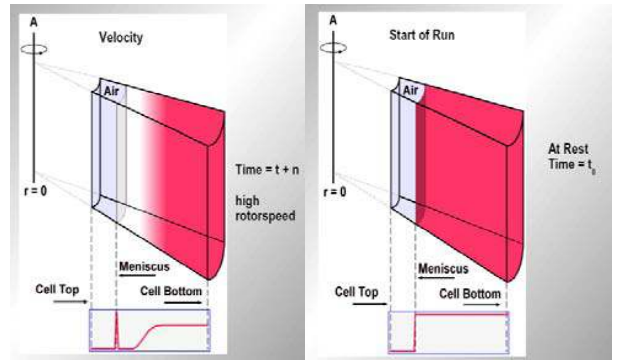
⇒ A força de sedimentação deverá ser muito superior à força de difusão

CENTRIFUGAÇÃO: VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO LIMITE

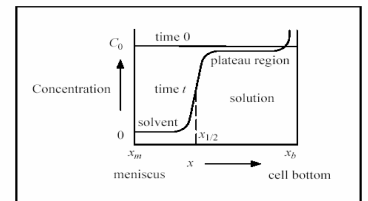
Então, o que se faz no processo de velocidade de sedimentação?

Aqui está representado um corte dum tubo de centrífuga. O material é depositado, aplica-se uma força de rotação, ao fim de algum tempo vai haver uma deslocalização das moléculas que vão depositar-se mais ao fundo. Demoram um determinado tempo até atingir aquela zona.

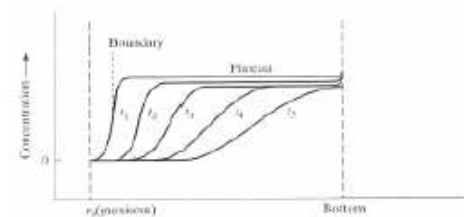
Claro está, se não houver difusão, para além da sedimentação. Se meramente o valor de D não entrasse para nada. Se as partículas sujeitas a força centrífuga, só caminhassem por acção dessa força, o perfil de concentração do tubo de centrífuga era este:



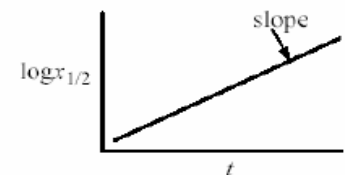
A concentração anulava-se na ponta, aumentava na zona intermédia e estabilizava nesta zona final. Exactamente porque há difusão, não temos uma recta tão bem definida. Temos é um perfil deste tipo, onde, nesta zona, vê-se conforme maior ou menor inclinação, que há maior ou menor difusão das partículas associadas também à sedimentação.



Se fizer este estudo para vários de sedimentação, isto é, se puser a centrífuga a trabalhar e for registando qual o perfil de concentração da substância ao longo deste tubo para um determinado tempo. Claro que este registo é feito por uma célula óptica acoplada na centrífuga, que vão dando os registos do perfil de concentração. Mede-se 1 minuto e regista-se o perfil; depois mede-se 2 minutos e regista-se o perfil, e assim sucessivamente.



Logo a seguir vai-se medir a distância média das partículas entre os dois pontos, ou seja, vai-se calcular o valor de x a dividir por 2. E faço $\log x/2$, em função dos diversos tempos e aí tem-se uma recta cujo declive é igual ao coeficiente de sedimentação.



A partir daí, podemos calcular a massa efectiva do soluto e consequentemente o seu peso molecular, o que foi explicado anteriormente.

$$\begin{aligned}
 S &= \frac{v_f}{\omega^2 x} = \frac{dx_{1/2} / dt}{\omega^2 x_{1/2}} = \frac{1}{\omega^2} \frac{d \ln x_{1/2}}{dt} \\
 &= \frac{2.303}{\omega^2} \frac{d \log x_{1/2}}{dt} \\
 &= \frac{2.303}{\omega^2} (\text{slope})
 \end{aligned}$$

A VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO LIMITE, PERMITE CALCULAR:

- Coeficiente de sedimentação
- Coeficiente de difusão (se os componentes sedimentados são bem preparados)
- Massa efectiva dos componentes do soluto
- Massa / Peso molecular

AS LIMITAÇÕES AO MÉTODO DA VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO LIMITE SÃO:

Nas zonas limites, porque há difusão, acontece que muitas vezes existe uma banda mais ou menos alargada que dificulta a separação dos componentes sobretudo em misturas complexas e nestas situações quando a difusão é extremamente acentuada relativamente à força que imprime na sedimentação, aparece aquela zona/curva que é muito acentuada e dificulta a separação e o delinear das bandas padrão das partículas. Nessa altura acontece que é necessário utilizar centrífugas com poder de rotação muito elevadas e que são caras. Por isso, este método além de ser rápido, mas quando as moléculas estão muito semelhantes, elas vão-se mover da mesma forma, e portanto a difusão vai ser acentuada, logo tem aquelas bandas que dificultam uma separação definida das moléculas de acordo com o seu peso molecular.

- ☑ Dispersão das zonas limite (se a difusão se torna significativa)
 - Difusão e sedimentação são duas formas de transporte do soluto
 - A sedimentação gera gradiente, a difusão opõe-se a esse efeito
- ☑ Dificuldade de separar componentes em misturas complexas
- ☑ Necessita de equipamento caro

ESPALHAMENTO DE ZONAS: DIFUSÃO VS HETEROGENEIDADE

Num sistema de um componente só, se não existisse difusão, o que acontecia é que a separação era muito definida. Tinha todas as moléculas separadas e localizadas na zona indicada. Podia contar completamente a distância desde o local de aplicação até onde as moléculas estavam localizadas.

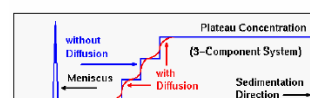
Quando existe difusão, não sabemos muito bem onde considerar o X. Conforme a curva é mais deitada, tanto mais difícil é definir exactamente o ponto máximo de moléculas

Num sistema multicomponente, estas curvas começam a sobrepor-se todas, se não houvesse difusão.

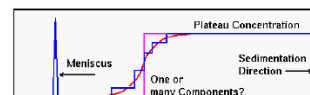
Podia separar direito cada molécula conforme o seu peso moléculas. As que se depositam no fundo eram as mais pesadas. Agora, porque há difusão, fica uma coisa tão distorcida que não se consegue definir se essas moléculas são todas iguais ou se há mistura de moléculas com peso molecular diferentes.



1- Sistema com um componente (as bandas espalham-se devido à difusão e dá um aspecto sigmoide)



2- Sistema multicomponente (os degraus que definem os perfis de cada componente podem perder definição quando aumenta a difusão)



3- Sistema multicomponente ou monocomponente? (sem análises posteriores é impossível afirmar se o limite de espalhamento é devido à heterogeneidade de S se é devido à difusão)

SEDIMENTAÇÃO – movimento de uma partícula por acção de um campo centrífugo.

Técnica usada para separar purificar analisar espécies celulares (proteínas, ácidos nucleicos, cromossomas, mitocôndrias, polímeros, etc.

SEDIMENTAÇÃO: TÉCNICA DA VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO

Método para determinar o coeficiente de sedimentação.

Consiste em:

- Colocar uma amostra com várias moléculas de peso molecular diferente num tubo de centrífuga, a rotação muito elevada a tempo determinado;
- Relativamente ao mesmo ponto do tubo vai-se registando o perfil de gradiente de concentração que se estabelece devido à força centrífuga.

Para além da força de sedimentação há outro fenómeno responsável pelo movimento aleatório das partículas:

DIFUSÃO



O perfil de sedimentação, caso não houvesse difusão, seria uma recta. A banda no gráfico estaria perfeitamente definida por acção apenas da força centrífuga. As moléculas dispunham-se conforme o seu peso molecular.

Devido a este fenómeno, a curva é sinusoidal. A inclinação desta curva indica o grau de difusão, ditando os limites de separação das moléculas. Como há difusão, há maior número de moléculas num ponto mas também há moléculas nos pontos adjacentes.

A menos que se recorra a métodos mais sofisticados e caros, a separação das moléculas nunca é a ideal.

A equação que exprime a velocidade de sedimentação diz-nos:

- Quanto maior a massa da partícula, mais lento é o seu movimento num campo centrífugo.
- Quanto mais densa a partícula (menor for \bar{v}) mais rápido é movimento quanto mais densa a solução, mais lento é o movimento.
- Quanto maior for o coeficiente de fricção (factores tais como viscosidade, forma da partícula, etc, influenciam este parâmetro) mais lento é o movimento da partícula.
- A velocidade da partícula é zero quando a densidade da solução é superior à densidade da partícula.
- Quanto maior for a força centrífuga ($\omega^2 r$) mais rapidamente a partícula sedimenta.

SEDIMENTAÇÃO: COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO

Num campo centrífugo, a partícula será acelerada até que a **força centrífuga** seja balanceada pela **força de fricção**.

$$s = \frac{v}{\text{aceleração}} = \frac{m(1 - \bar{v}\rho)}{f} \quad \text{e} \quad [s] = \frac{\text{cm/s}}{\text{cm/s}^2} = s \quad \text{S}_{20,w} \text{ (Svedberg)}$$

$1s = 10^{-13} \text{segundos}$

Como s depende das propriedades da solução, os valores medidos de s , devem ser convertidos às condições padrão, (temperatura é 20°C e o solvente é a água) (para poderem ser comparáveis para diferentes moléculas).

f é um parâmetro que identifica o tipo de molécula, ou seja, cada molécula tem um valor de f definido em condições padrão. Permite calcular o peso molecular da substância e está relacionado com a rotação a que a molécula é sujeita.

COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO: FACTORES DE QUE DEPENDE

S é sensível à temperatura, pH e concentração

- Para comparar o resultado de diferentes medidas
- Converter s aos valores padrão (água pura a 20°C – $S_{20,w}$)
- Se dois solventes dão valores muito diferentes de $S_{20,w}$, a molécula tem diferentes conformações nos dois solventes

TABLE 5.3 SOME SEDIMENTATION AND DIFFUSION DATA

Substance	$s_{20,w}^0 \times 10^{11}$ (sec)	$D_{20,w}^0 \times 10^8$ (cm ² /sec)	\bar{v}_2 (cm ³ /g)	$M_{r,p}$
Lipase	1.14	14.48	0.732	6697
Lactocytin	1.91	11.20	0.703	14,400
Serum albumin	4.31	5.91	0.734	66,000
Catalase	11.3	4.10	0.730	250,000
Fibrinogen	7.9	2.02	0.706	330,000
Urease	18.6	3.46	0.730	483,000
Hemocyanin (maff)	105.8	1.04	0.727	8,950,000
Besky stent virus	132	1.15	0.740	10,700,000

Most of these, and many other data, are listed in G. Fasman (1976).

- S aumenta com o peso molecular
- Moléculas altamente assimétricas têm valores de s mais baixos do que moléculas globulares

COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO & MASSA MOLECULAR: M. MOLECULAR ABSOLUTA

$$f = \frac{kT}{D}$$

$$s = \frac{m(1-\bar{v}\rho)}{f} \quad \Rightarrow \quad s = \frac{m(1-\bar{v}\rho)}{\frac{kT}{D}} \quad \Rightarrow \quad s = \frac{D}{kT} m(1-\bar{v}\rho)$$

$$M = N_0 m$$

$$s = \frac{D}{kT} \times \frac{M}{N_0} m(1-\bar{v}\rho)$$

$$R = N_0 k$$

$$M = \frac{RTs}{D(1-\bar{v}\rho)}$$

COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO: SIGNIFICADO

O coeficiente de sedimentação é a distância, em cm, percorrida pela molécula, durante 1 segundo, sob efeito de uma força de 10^{-2} N kg⁻¹, no solvente água, a 293 K

S depende:

a) Propriedades moleculares da molécula.

m - massa molecular

u - volume específico parcial

f – forma da molécula

b) Propriedades da solução.

ρ - densidade

η - viscosidade (porque f depende de φ)

COEFICIENTE DE SEDIMENTAÇÃO: MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO

Método da velocidade de sedimentação

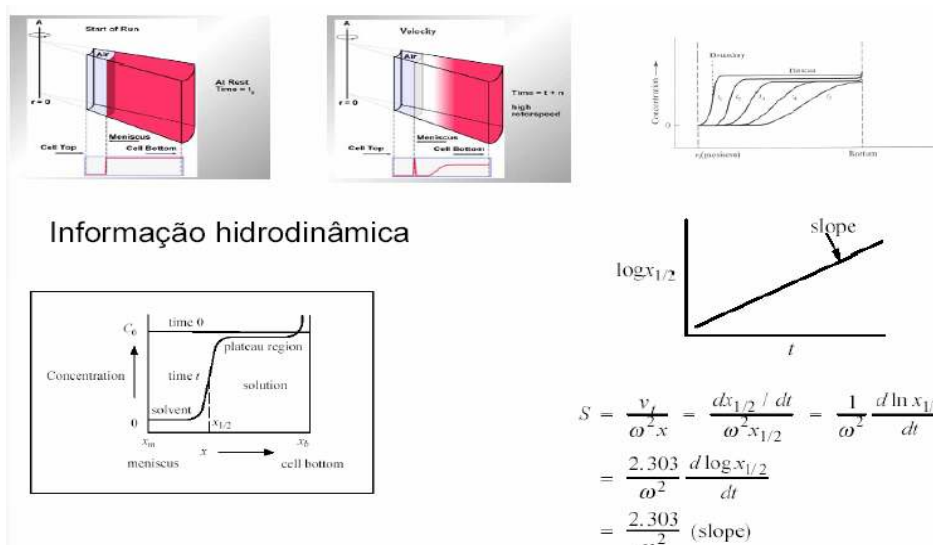
(fornece informação hidrodinâmica sobre as moléculas em solução)

Os parâmetros experimentalmente determinados incluem o coeficiente de sedimentação, **S**, a constante de difusão, **D**, e em alguns casos, a massa molecular, **M**. Se a massa molecular é conhecida, o coeficiente de sedimentação pode ser usado para obter uma estimativa da forma molecular da molécula em solução

Usado para grandes moléculas que difundem lentamente.

A força de sedimentação deverá ser muito superior à força de difusão.

CENTRIFUGAÇÃO: VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO LIMITE



VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO: PERMITE CALCULAR

- Coeficiente de sedimentação
- Coeficiente de difusão (se os componentes sedimentados são bem preparados)
- Massa efectiva dos componentes do soluto
- Massa / Peso molecular

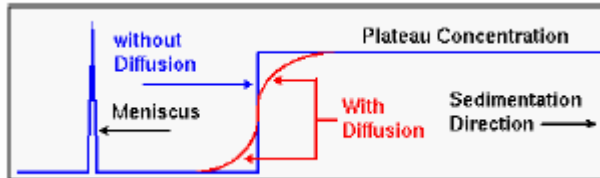
VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO LIMITE: LIMITAÇÕES AO MÉTODO

- Dispersão das zonas limite (se a difusão se torna significativa)

- Difusão e sedimentação são duas formas de transporte do soluto
- A sedimentação gera gradiente, a difusão opõe-se a esse efeito
- Dificuldade de separar componentes em misturas complexas
- Necessita de equipamento caro

A sedimentação permite verificar se há homogeneidade ou heterogeneidade no sistema.

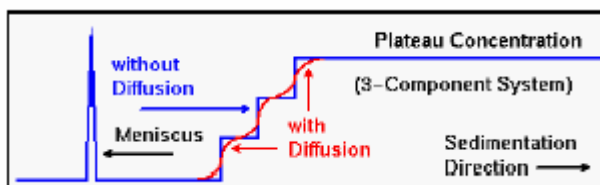
1º CASO:



Sistema com um componente (as bandas espalham-se devido à difusão e dá um aspecto sigmoidal).

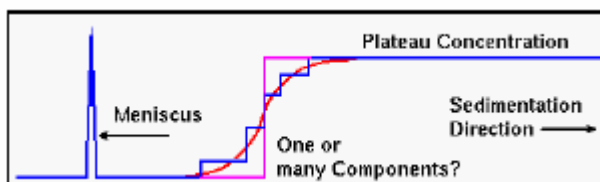
Uma banda de separação – o sistema é constituído por um componente

2º CASO:



Sistema multicomponente (os degraus que definem os perfis de cada componente podem perder definição quando aumenta a difusão).

3º CASO:



Se o sistema é constituído por mais do que um componente formam-se várias bandas de sedimentação. Contudo, a difusão sobrepõe-se à sedimentação; assim, não há semicurvas perfeitamente definidas, tornando-se difícil concluir qual a composição da amostra. Sem análises posteriores é impossível afirmar se o limite de espalhamento é devido à heterogeneidade de S se é devido à difusão. Recorre-se a outras técnicas.

EXERCÍCIO PRÁTICO

Calcular o coeficiente de sedimentação (s) e o coeficiente de fricção (f) para a E. Coli DNA ligase em soluções diluídas de tampão aquoso (20 mM de fosfato, 10 mM NH_4Cl , pH 6,5 e temperatura de 20,6°C. Considere os seguintes dados:

Peso Molecular = 74,000g/mol

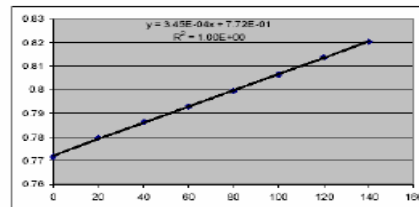
$V_{\text{molécula}} = 0,737 \text{ cm}^3/\text{g}$

$\rho_{\text{tampão}} = 1,010 \text{ g/cm}^3$ a 20,6°C

$\omega = 56,050 \text{ rpm}$

T(min)	$x_{1/2}$	$\log x_{1/2}$
0	5,9110	0,7717
20	6,0217	0,7797
40	6,1141	0,7863
60	6,2068	0,7929
80	6,3040	0,7996
100	6,4047	0,8065
120	6,5133	0,8138
140	6,6141	0,8205

Plot $\log x_{1/2}$ vs time



$\omega = 56,050 \text{ rpm} \times (2\pi \text{ radianos/revolução}) (1 \text{ minuto}/60 \text{ segundos})$

$\omega = 5,87 \times 10^3 \text{ rad/segundo}$

$$s = \left[\frac{1}{\omega^2} \right] \left[\frac{2,303 d \log x_{1/2}}{dt} \right]$$

$$s = \frac{(2,303) (5,87 \times 10^3 \text{ rad/s}) (3,42 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1})}{(5,87 \times 10^3 \text{ rad/s}) (60 \text{ seg/min})}$$

$$S = 3,81 \times 10^{-13} \text{ segundos} = 3,81 \text{ S}$$

Calcule agora o coeficiente de fricção

$$f = \frac{v_t}{\omega^2 x} = \frac{m(1 - \bar{v} \rho)}{s}$$

Primeiro calcule o valor de m

$$m = \frac{74,000 \text{ g/mol}}{6,023 \times 10^{23} \text{ moléculas/mol}} = 1,23 \times 10^{-19} \text{ g}$$

e....

$$f = \frac{[(1,23 \times 10^{-19} \text{ g}) (1 - (0,737)(1,010))]}{3,81 \times 10^{-8} \text{ g/seg}}$$

$$f = 8,24 \times 10^{-8} \text{ g/seg}$$

1- Regista-se a distância que a substância percorre a tempos diferentes desde o topo do tubo até um determinado ponto.

2- Faz-se um gráfico do logaritmo em função do tempo. O declive da recta do gráfico é o valor de f. Este valor é influenciado pelo valor de rotação.

Nota 2: O valor de rotação é dado em rad/s.

3- Compara-se o valor obtido com os valores tabelados.

CENTRIFUGAÇÃO: VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO EM GRADIENTE DE DENSIDADE

Para prevenir a dispersão causada pela difusão recorre-se a um artifício → colocam-se as macromoléculas num meio altamente denso e estável (normalmente sucrose). Como o meio é muito denso, impede a difusão e a banda de sedimentação será mais definida.

Juntamente com a sedimentação das moléculas ocorre um gradiente de concentração da sucrose pois esta também está sujeita à rotação. Contudo, a sedimentação das bandas a que corresponde cada macromolécula sobrepõe-se a esse gradiente.

Há uma separação definida, assim como caracterização das substâncias

↓

↓

Técnica usada para ultrapassar a limitação da técnica da velocidade de sedimentação.



a)- Uma camada de solução de macromoléculas é colocada no topo de um tubo de centrífuga contendo sucrose;

b) Por rotação as macromoléculas movem-se em função do campo centrífugo. A sucrose também desenvolve um gradiente. O gradiente da sucrose também garante que a densidade do “solvente” seja sempre superior à densidade da zona de concentração. Garante a estabilidade da zona.

c) S é determinado pelo deslocamento da banda, no tubo de centrífuga, com o tempo.

LIMITAÇÕES:

- Não é exacta a medida da massa molecular porque a sucrose mistura-se com a substância

VANTAGENS:

- Separação completa dos componentes de uma mistura
- Relativamente barata

CENTRIFUGAÇÃO: EQUILÍBRIO DE SEDIMENTAÇÃO

- Outra forma de cálculo de f ;
- A difusão não intervém nos resultados.



Coloca-se a amostra numa centrífuga que permita baixa velocidade de rotação; a difusão sobrepõe-se à sedimentação. As moléculas vão-se sedimentando e difundindo. Passados vários dias, as duas forças equilibram-se e é possível analisar a banda.

O fluxo de sedimentação é directamente proporcional à velocidade e à concentração da substância.

O fluxo de difusão depende do gradiente de concentração e do coeficiente de difusão (D).

Quando as forças se anulam, obtém-se o valor da velocidade de depósito ou velocidade terminal.

É um processo utilizado para determinar a velocidade de sedimentação ou depósito das moléculas sanguíneas. Há um tempo normal de sedimentação. Havendo patologias, há variação da viscosidade, aparecimento de moléculas indesejadas, etc. Deste modo, há variação do tempo de sedimentação.

Informação termodinâmica

Equilíbrio de gradiente de concentração: sedimentação é exactamente balanceada pela difusão (moléculas exponencialmente distribuídas ao longo da célula).

Equilíbrio: $J = 0$

$$J = J_{\text{sed}} + J_{\text{difusão}}$$

$$J_{\text{sed}} = v_t c$$

$$J_{\text{dif}} = -D \frac{dc}{dx}$$

$$\frac{1}{c} \frac{dc}{dx} = \frac{\omega^2}{RT} M (1 - v \rho) x$$

$$\frac{1}{c} dc = \frac{\omega^2}{RT} M (1 - v \rho) x dx$$

$$\int_{c_1}^{c_2} \frac{1}{c} dc = \int_{x_1}^{x_2} \frac{\omega^2}{RT} M (1 - v \rho) x dx$$

$$\ln \left(\frac{c_2}{c_1} \right) = \frac{\omega^2}{2RT} M (1 - v \rho) (x_2^2 - x_1^2)$$

$$v_t c - D \frac{dc}{dx} = 0 \quad \begin{matrix} 2 \text{ é} \\ \text{ive} \end{matrix}$$

$$v_t = \frac{m(1 - v \rho) \omega^2 x}{2RT M (1 - v \rho)}$$

⇒ Calcular M através do declive

Este método não necessita da determinação de D

EQUILÍBRIO DE SEDIMENTAÇÃO: PERMITE CALCULAR

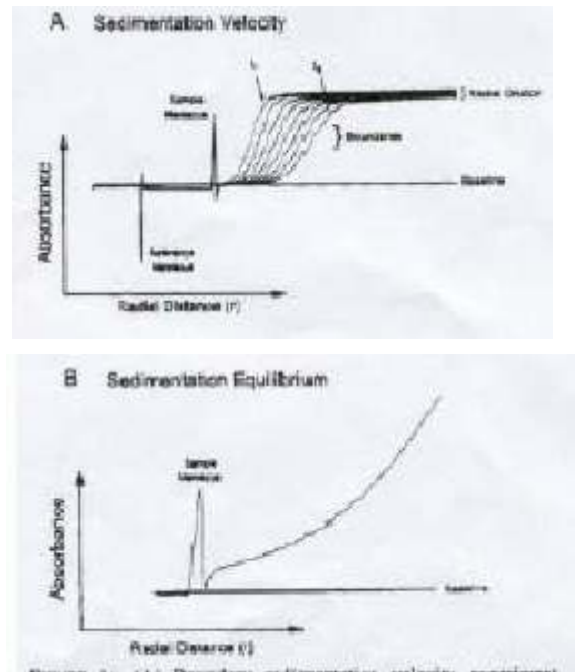
- Massa / peso molecular
- Homogeneidade em relação ao peso molecular
- Estados de agregação
- Estequiometria e constantes de equilíbrio para processos de associação

VANTAGENS:

- Não é necessário o cálculo de D para cálculo do peso molecular.
- Dá indicações da homogeneidade do sistema relativamente ao peso molecular das partículas constituintes.
- Permite saber o estado de agregação das moléculas e consequentemente a estequiometria e os estados de equilíbrio.

MEDIDAS EM CENTRIFUGAÇÃO ANALÍTICA: EXEMPLOS

Fig. 6.13 Density-gradient centrifugation. (a) A macromolecular species in a concentrated salt solution of an appropriate density is spun in an ultracentrifuge. The solution was initially homogeneous. After a certain time, equilibrium is reached. The concentration of the salt, and consequently, the density of the solution, increases with increasing distance from the center of rotation. The macromolecular species forms a band at a position at which the solvated molecules are buoyant. (b) An actual tracing of two DNA species in a CsCl solution. The initial homogenous solution has a density of 1.739 g cm^{-3} . After 17 h at $44,770 \text{ revolutions min}^{-1}$ and 25°C , the DNA species form two sharp bands. Species 1 is a bacterial virus DNA with a molecular weight 20×10^6 . Species 2 is the same DNA except that it contains a heavier isotope of nitrogen (^{15}N rather than the usual ^{14}N). The substitution of ^{14}N by ^{15}N increases the buoyant density of this DNA by 0.012 g cm^{-3} .



VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO: Registo feito a tempos diferentes

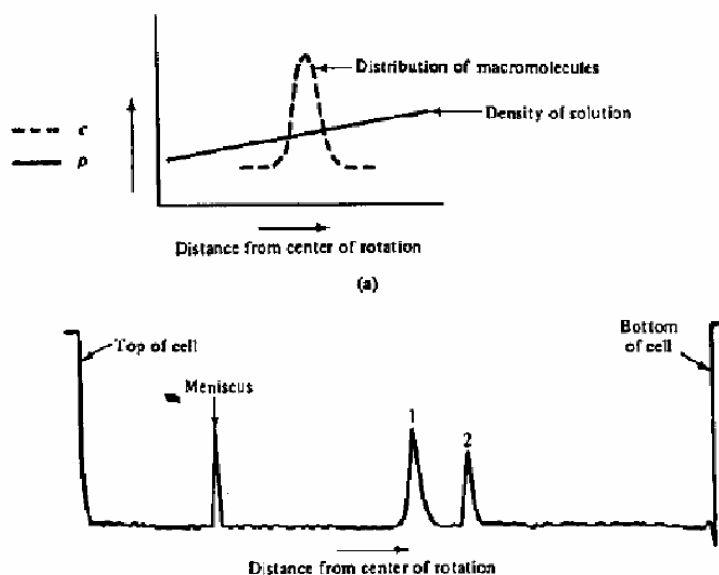
EQUILÍBRIO DE SEDIMENTAÇÃO: Ao fim de alguns dias, quando a velocidade terminal se atinge, regista-se a variação da concentração em dois pontos relativamente a duas distâncias definidas e relaciona-se graficamente o logaritmo dessa relação para determinar o valor de Θ .

CENTRIFUGAÇÃO: EQUILÍBRIO DE GRADIENTE DE DENSIDADE

Para que as bandas sejam mais definidas, sujeita-se a sedimentação a um **gradiente de densidade** em cloreto de cério com concentração bem definida. A separação das moléculas é evidente.

Há também variação do gradiente de concentração do cloreto de cério mas a sedimentação sobrepõe-se a esse gradiente.

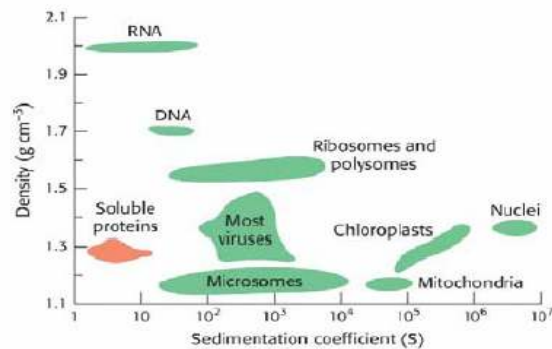
Nota: A sucrose não é escolhida porque a sua densidade não é suficientemente elevada.



Solução de macromoléculas preparada em solução de CsCl

Centrifugação até ao equilíbrio produz um forte gradiente de CsCl e consequentemente um gradiente de densidade através do tubo.

Se a concentração de CsCl é correctamente escolhida as macromoléculas migram em banda através do gradiente do solvente até que $(1 - u_{\text{molécula}}\rho) = 0$



ELECTROFORESE: GENERALIDADES

- Transporte de partículas num campo eléctrico.
- Permite calcular o peso molecular das substâncias e caracterizá-las.
- Usada para separar compostos com carga.
- Usada na biologia para separação de aminoácidos, peptídeos, proteínas e ácidos nucleicos, em condições propícias. Ajusta-se principalmente o pH porque de acordo com este, as moléculas adquirem a sua carga. Moléculas negativas e positivas movem-se em direcções opostas ao campo eléctrico.
- Determinação da composição das proteínas por comparação com padrões electroforéticos.

As moléculas são colocadas num suporte físico ao qual é adaptado um sistema de variação de tensão e de acordo com a polaridade desse sistema, as moléculas negativas migram para o pólo positivo e as positivas para o pólo negativo.

↓

Há separação perfeita...



Este método é o utilizado para conhecer o perfil das γ-globulinas. Permite conhecer a composição das proteínas de acordo com os aminoácidos que as constituem, segundo a afinidade dos mesmos para a substância usada.

ELECTROFORESE: PRINCÍPIOS GERAIS

Em situação ideal...

Ao meio em que se encontra a molécula é aplicada uma diferença de potencial e de acordo com o número de cargas da molécula e com o número de cargas do meio, a molécula movimenta-se mais ou menos lentamente. Só a molécula é carregada.



Mas...

A molécula tem tendência a atrair moléculas de carga oposta do meio porque há tendência para a electroneutralidade. Assim, a carga efectiva da molécula deriva da sua carga real em conjunto com as cargas que atraiu.

Num solvente não condutor:

Força de Coulomb: $F = ZeE$

Z – nº de cargas

e – grandeza da carga

E – grandeza do campo eléctrico

Força de fricção: $F_d = -fu$

Para uma partícula esférica: $f = 6\pi\eta r$

ELECTROFORESE: MOBILIDADE ELECTROFORÉTICA

Para além de uma força de Coulomb que promove o movimento da partícula e que só depende do campo eléctrico, da carga efectiva da molécula e do número de cargas existentes (por exemplo, 2 moléculas = 2 cargas; 5 moléculas = 5 cargas), há outra força que impede o movimento: **força de fricção**, relacionada com a viscosidade do meio e o raio da partícula.

Quando a força de fricção iguala a força que promove o movimento, **força electroforética**, a molécula estaciona em determinada zona do meio físico em que está contida.

Pode, então, definir-se a velocidade de migração da molécula que depende de:

- força de Coulomb
- força de fricção

A velocidade de migração depende:

- do valor do campo eléctrico
- da mobilidade electroforética

Velocidade terminal:

$$F + F_d = ma, \quad a = 0$$

$$u = \frac{ZeE}{f}$$



$$u = \frac{ZeE}{6\pi\eta r}$$

Z = nº de cargas (sem dimensões)
e = carga eléctrica ($1,6022 \times 10^{-19} \text{ C}$)
E = campo eléctrico (volt m^{-1})
f = coeficiente de fricção (Kg s^{-1})

U = velocidade de migração

$$U = \text{ms}^{-1}$$

μ = mobilidade electroforética
 $= u/E$

ELECTROFORESE: MOBILIDADE ELECTROFORÉTICA

μ = mobilidade electroforética

Permite medir a carga da partícula num meio não condutor.

Como a molécula tem tendência a formar uma atmosfera iónica, torna-se difícil interpretar os resultados da mobilidade e os valores tabelados não irão coincidir com os obtidos.

A carga das moléculas altera o coeficiente de fricção.

Conclui-se...

A mobilidade electroforética não é um parâmetro absoluto mas sim relativo de caracterização.

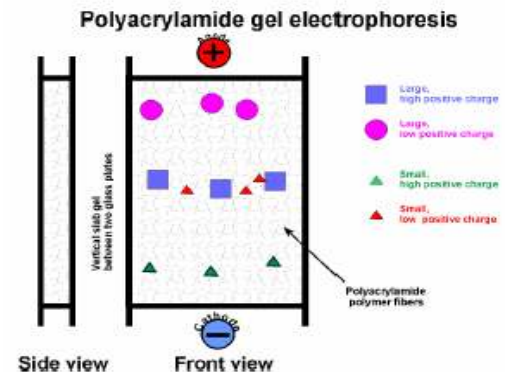
COMO É REALIZADA A ELECTROFORESE...

...Em suporte físico com

- Gel de agarose
- Poliacrilamida



Fita onde se estabelece uma diferença de potencial. Conforme a carga e o tamanho da partícula e a diferença de potencial, há movimentação da mesma.



Quando a velocidade de migração permite diferenciar as moléculas relativamente ao seu tamanho e carga, consegue determinar-se o peso molecular.

A velocidade de migração depende:

- Da carga
- Do tamanho (que é proporcional ao peso molecular)

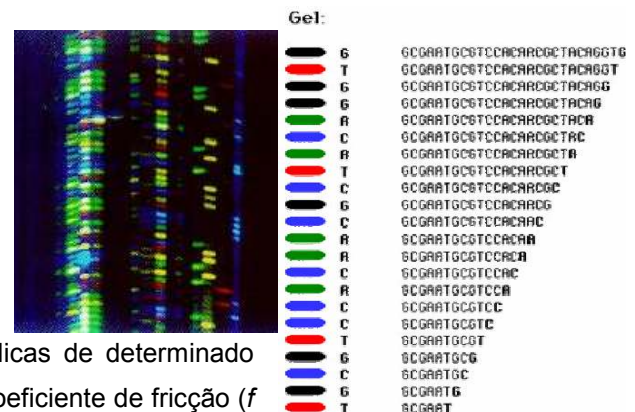
↑ carga da partícula → ↑ velocidade de migração para o eléctrodo de carga oposta

↓ tamanho da partícula → ↑ velocidade de migração



Determinando a distância percorrida pode-se, por exemplo, determinar a sequência de ADN. Os ácidos nucleicos podem ser separados de acordo com o peso molecular porque possuem uma carga de fosfato por cada base (nucleótido). Para

as proteínas o número de cargas depende da composição dos aminoácidos e do pH do tampão. Para além disso também se pode conhecer a sua conformação, pois as cadeias polipeptídicas de determinado comprimento podem adquirir diferentes formas com diferente coeficiente de fricção (f) (é proporcional ao seu comprimento).



APLICAÇÕES:

- Conformação dos ácidos nucleicos (ácidos nucleicos com igual peso molecular têm diferentes mobilidades electroforéticas)
- Peso molecular das proteínas
- Carga das proteínas
- Interações macromoleculares

ELECTROFORESE EM GEL: PESO MOLECULAR

- Os ácidos nucleicos podem ser separados de acordo com o peso molecular porque possuem uma carga de fosfato por cada base (nucleótido)
- Para as proteínas o número de cargas depende da composição dos aminoácidos e do pH do tampão
- As cadeias polipeptídicas de determinado comprimento podem adquirir diferentes formas com diferentes coeficiente de fricção (f) (é proporcional ao seu comprimento)

Para usar a electroforese para determinar o peso molecular é necessário:

- Desnaturar as proteínas
- Introduzir uma carga em cada peptídeo

Então, para que os resultados de mobilidade sejam fiáveis, pode-se introduzir uma carga em cada peptídeo ou promover desnaturação das proteínas. Faz-se electroforese em gel, usando um detergente aniónico (SDS) e 2-mercaptoetanol para promover a separação (quebra as ligações sulfureto das proteínas mantendo a sua forma).

Se a concentração de detergente for próxima da concentração dipolar crítica ($>10^{-3}M$), as proteínas ligam-se em quantidade constante ao SDS e carga deste anula a carga intrínseca da proteína. Forma-se um novelo do complexo SDS-proteína, que é proporcional ao peso molecular da proteína.

A mobilidade é constante para o SDS, p excedente é relativo à proteína.

Agora, o perfil hidrodinâmico da proteína e função

- do seu peso molecular
 - da distância de migração
- em relação logarítmica.

$$\log M = a - bx$$

M = peso molecular da proteína

X = distância de migração no gel (proporcional à mobilidade)

A e b = constantes para um dado gel e um dado campo eléctrico



Calibrar com proteínas de peso molecular conhecido

Registando a mobilidade em função do log de N, obtém-se uma recta de calibração que, quando efectuada em padrões electroforéticos, obtém-se uma curva de calibração que pode ser usada para calcular o peso molecular de uma proteína.

FACTORES DE QUE DEPENDE ESSA RELAÇÃO:

- 1 – Quantidade constante de detergente ligado por unidade de peso de proteína

2 – Carga que o detergente adquire em função da carga da proteína.

Nota: desvios a esta relação ocorrem quando as proteínas se ligam a uma quantidade anormal de SDS (glicoproteínas) ou transporta um número elevado de cargas (histonas).

Para proteínas nativas a mobilidade depende:

- da carga da proteína
- do coeficiente de fricção

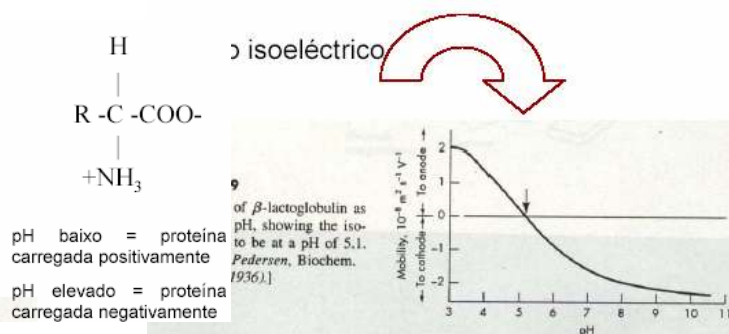
De que depende a carga da proteína?

- da composição dos aminoácidos
- da carga dos ligandos ligados covalentemente ou reversivelmente
- do pH (escolha criteriosa deste permite separar diferentes proteínas)

ELECTROFORESE: CARGA DA PROTEÍNA

Como o aminoácido tem uma estrutura com carga positiva ou negativa e de acordo com o pH se torna positivo ou negativo, as condições de pH devem ser perfeitamente definidas.

A mobilidade de um aminoácido depende do pH. Quando o aminoácido tem uma carga positiva, desloca-se para o pólo negativo. As cargas anulam-se no ponto isoelétrico, a determinada altura. Continuando a aumentar o pH do meio, a partícula torna-se mais negativa. Vai-se movimentar para o pólo positivo. Assim, a mobilidade varia apenas em função da carga do SDS.



Como a proteína se liga em quantidade fixa ao SDS pode-se relacionar o valor da mobilidade com o peso molecular.

Quantidade correspondente ao ponto isoelétrico = ponto isoiónico (pH para o qual as macromoléculas não transportam carga como resultado da perda ou ganho de prótons das reacções ácido base).

EXERCÍCIO: DIFUSÃO

O coeficiente de difusão da ribonuclease A bovina (Rnase A) a 20 °C, em tampão diluído é:

$$D_{(Rnase A)} = 1,31 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$$

$$K = 1,380 \times 10^{-16} \text{ erg/K-molécula} \quad (1 \text{ erg} = 1 \text{ g m/s}^2)$$

a) Calcular o coeficiente de fricção

$$D = \frac{kT}{f} \Rightarrow f = \frac{kT}{D}$$

$$f = \frac{[(1,380 \times 10^{-16} \text{ gm/s}^2 \text{ K - molécula})(298 \text{ K})]}{1,31 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}}$$
$$f = 3,09 \times 10^{-8} \text{ g/s}$$

Fenómenos de transporte : Reologia

Reologia: ciência que estuda o transporte de matéria

APLICAÇÕES PRÁTICAS:

Processos industriais :

- Acompanhamento de reacções químicas
- Controlo de qualidade dos produtos durante o processamento
- Controlo de processos industriais

Propriedades de diversos materiais

- Óleos
- Alimentos
- Tintas
- Asfaltos, etc, etc

Actividade medicamentosa

- Fórmulas de acção prolongada
- Fórmulas para administração sub-cutânea
- Veículo das preparações

Estabilidade das formulações

- Suspensões e emulsões
- Ácido ascórbico
- Sensação dolorosa

Preparação de formulações

- Supositórios
- Verificação (gelificação in vitro- para ensaio espirogéneo, em ambiente asséptico para não haver proliferação de microrganismos. Se há variação da viscosidade do meio, significa que houve proliferação)

Estados patológicos

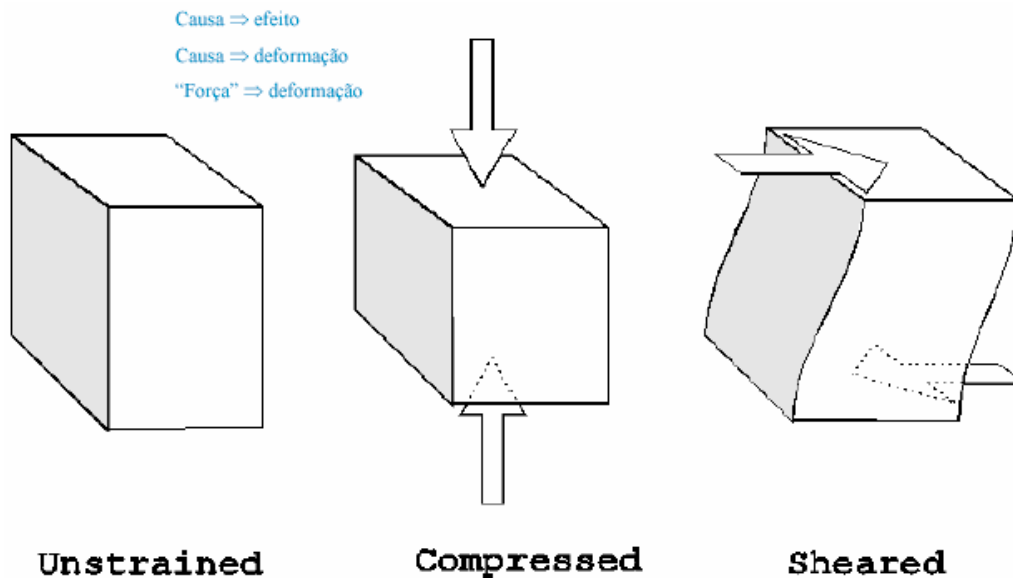
- Secreções – em ginecologia, por exemplo, tomam especial relevância, para programação da fertilidade, etc.

A variação da viscosidade em fluidos corporais pode ser indicadora de patologias.

- Anti-inflamatórios
- Expectorantes

Reologia: Deformação, Elasticidade e Fluxo

Quando uma força é aplicada a um corpo, pode não causar nenhum efeito. Pode, contudo, causar uma deformação que pode ser classificada de acordo com a força que a provocou.



Chama-se a esta força stress.

Essa deformação também depende da área.

STRESS

- força que aplicada a um corpo lhe causa deformação
- exprime-se em Pascal (1 Pascal = 1 Pa = 1 N/m²)

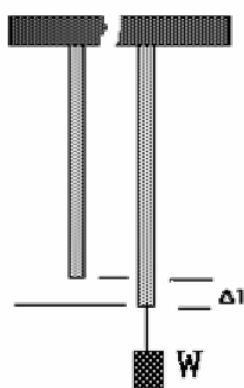
$$\frac{F}{A} = stress$$

Se o stress é perpendicular à área deformada, chama-se stress normal e representa-se por σ .

A aplicação do stress pode causar uma variação de comprimento em relação ao comprimento inicial, ou seja, pode produzir uma deformação linear. A deformação que o corpo sofre é função do stress e este é proporcional à deformação causada.

A deformação é denominada de módulo de elasticidade ou módulo de Young.

Na deformação linear...



$$\sigma = E \varepsilon$$

E- módulo de elasticidade ou módulo de Young

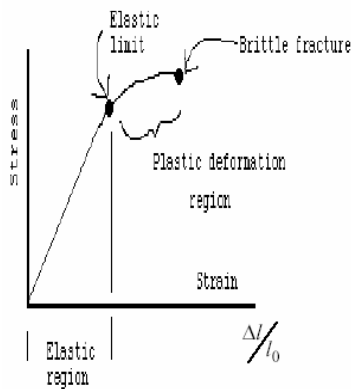
ε -deformação linear

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0}$$

$$E = \frac{F/A}{\Delta l/l_0}$$

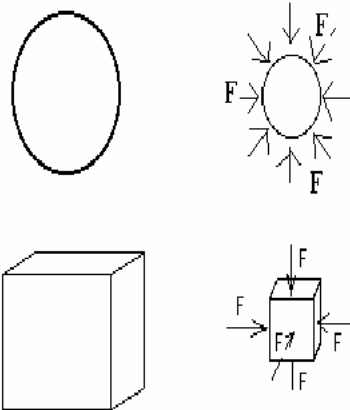
Há corpos que, ao deixar de se lhes aplicar uma força deformadora, voltam à forma inicial. Há um limite em que isto não se verifica: limite elástico.

Até aqui não há quebra de ligações das cadeias e a molécula tem tendência a regressar à posição inicial. A partir deste momento há quebra da ligação das moléculas não podendo estas retornar à posição inicial. Deixa de haver reversibilidade da deformação e passa a haver fluxo.



- Variação do stress em função da deformação linear
- O módulo de Young é o declive da recta correspondente à região linear

Na compressão...



$$\sigma = -C\theta$$

C- módulo de compressão ou módulo de volume

θ- esforço de volume

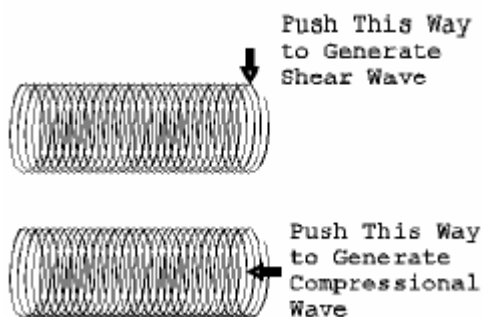
$$\theta = \frac{\Delta V}{V_0}$$

$$C = \frac{F/A}{-\Delta V/V_0}$$

Sempre que a força é aplicada em várias direcções e não numa só, pode ocorrer variação do volume em relação ao volume inicial. Então o stress é proporcional à variação do volume. Ocorre compressão.

Como a variação do volume é negativa ($V_f < V_i$), a compressão ou stress é afectada por um sinal negativo.

Em corpos perfeitamente elásticos...



Qualquer deformação provocada na largura e no comprimento mantém-se constante. Esta relação constante é característica das substâncias. É a relação de Poisson:

$$\mu = \frac{\frac{\Delta e}{e_0}}{\frac{\Delta l}{l_0}} = \frac{\text{variação largura}}{\text{variação comprimento}}$$

Explos:

$$\varepsilon_{\text{aço}} = 2,5 \times 10^{11} \text{ Pa}$$

$$\varepsilon_{\text{borracha}} = 8 \times 10^5 \text{ Pa}$$

$$C_{\text{aço}} = 1,6 \times 10^{11} \text{ Pa}$$

$$C_{\text{aco}} = 1,9 \times 10^7 \text{ Pa}$$

Em substâncias em que a ligação é menos forte, a relação de Poisson é muito característica. Nos metais, o esforço que é preciso realizar para quebrar as ligações é tanto que é difícil ser atingido.

Em substâncias com forças de ligação ainda mais fracas, nomeadamente líquidos, abaixo do limite de elasticidade, a força é suficiente para deslocar as moléculas, mas acima desse limite começa a haver deslocamento das moléculas e esses corpos exibem fluxo: corpos viscosos ou corpos de Newton.

FLUXO – capacidade de as moléculas se movimentarem na direcção da força que produz esse movimento, ou seja, na direcção do stress.

TIPOS DE FLUXO:

- Turbulento – movimento desordenado de partículas.



- Laminar – fluxo que se processa no organismo.



Ex: Nos mergulhadores que que mergulham a altas profundidades, o fluxo de oxigénio começa a ser turbulento, podendo levar à morte.

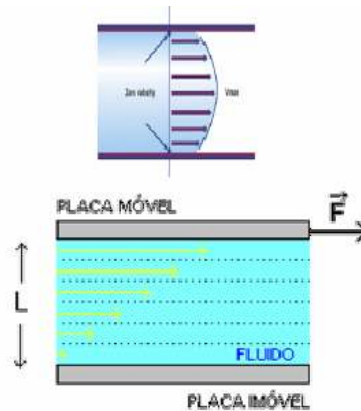
Resumindo...

Abaixo de L insuficiente para deslocar moléculas vizinhas;

Acima de L suficiente para deslocar moléculas vizinhas;

Corpos que exibem fluxo =corpos viscosos = Corpos de Newton

VISCOSIDADE



TRADUZ:

- a medida da resistência ao fluxo;
- uma fricção interna entre camadas adjacentes, sendo o resultado de colisões moleculares, sendo causada uma resistência que define o fluxo.

EXPERIMENTALMENTE

Sob condições de fluxo laminar, a força necessária para movimentar uma placa, a velocidade constante, contra a resistência de um fluido, é proporcional à área da placa e ao gradiente de velocidade. Constante de proporcionalidade = viscosidade

Visualiza-se o líquido como um conjunto de placas paralelas que se movimentam na direcção de uma força a velocidades diferentes. O atrito que a placa superior sofre é praticamente nulo, logo, a sua velocidade será superior à da placa inferior. O acumular dos atritos das placas superiores em conjunto com o atrito da superfície sólida com que o líquido está em contacto, interferem na velocidade da placa inferior.

A força que produz o deslocamento é directamente proporcional à área da solução e à velocidade com que as placas se deslocam. É inversamente proporcional ao comprimento:

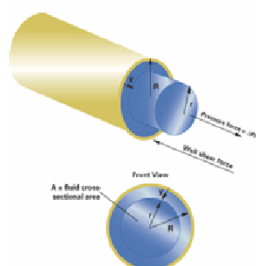
$$F = \eta \frac{Av}{L}$$

η é constante

Equação de Poiseuille

Se um líquido Newtoniano é levado a fluir de um modo aerodinâmico, ao longo de um tubo cilíndrico, de comprimento l e de raio, r , em virtude da diferença de pressão entre os seus extremos, Δp , o volume de líquido que flui num dado tempo, t , é dada por :

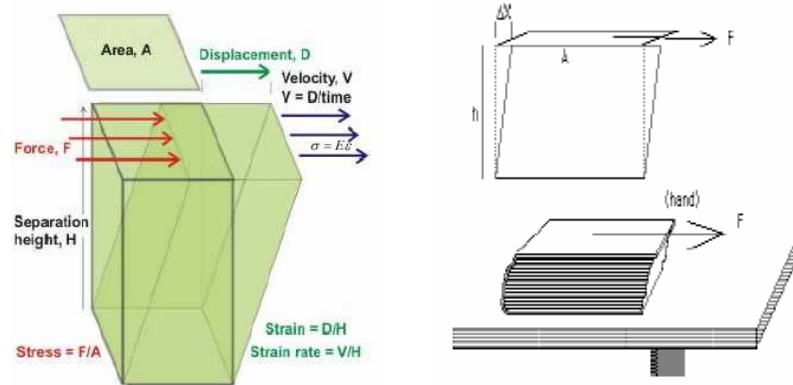
$$V = \frac{\pi r^4 t \Delta p}{8 l \eta}$$



É por este motivo que na arteriosclerose, o volume de sangue é condicionado pela diminuição do raio das artérias devido à deposição de gordura nas suas paredes. É exigido um esforço adicional ao coração para que o volume de sangue que flui por unidade de tempo seja o mesmo.

Através desta expressão tem-se a variação da viscosidade dinâmica dos líquidos.

Laminação



A laminação consiste no deslocamento de placas paralelas de área A e de estrutura infinitesimal que se movimentam na direcção da força aplicada. Essa força é directamente proporcional ao módulo de laminação e provoca esforço de laminação, logo, também é directamente proporcional a este.

O esforço de laminação consiste na variação da distância das placas relativamente à posição inicial e pode ser quantificado através da velocidade do movimento.

$$F = S \frac{\Delta x}{h}$$

S = módulo de laminação

$\frac{\Delta x}{h}$ = esforço de laminação

$$\text{velocidade} = \frac{\Delta x}{t}$$

$$D = \frac{\frac{\Delta x}{t}}{\Delta h} \quad \tau = S \frac{\Delta x}{h}$$

Então.....

$$\tau = \eta D$$

Como avaliar a extensão de deformação?

Através da velocidade de laminação (velocidade a que varia o esforço de laminação relativamente ao tempo)

1) Viscosidade Dinâmica

É a forma mais comum de viscosidade, frequentemente abreviada para viscosidade . As unidades em SI são pascal.segundo (Pa s) ou poise (P).

Fluidez é o recíproco da viscosidade

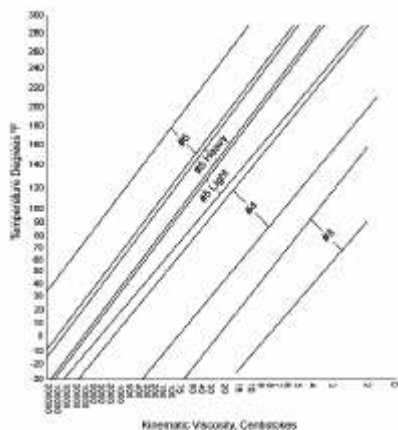
$(\varphi = 1/\eta)$

2) Viscosidade cinemática

É utilizada para caracterizar substâncias com propriedades químicas semelhantes. Exprime-se em Unidades do sistema Internacional (Pa sKg-1 m3) ou em stokes

1 stoke = 1 cm²s⁻¹

$$v = \frac{\eta}{\rho}$$



$$V_{\text{água}} = 1,0 \times 10^{-6} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} = 0,01 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$$

$$V_{ar} = 1,5 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} = 0,15 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$$

Quando se trata de macromoléculas ou moléculas diluídas em solventes com determinadas características de viscosidade, não se trata de viscosidade dinâmica, visto que as moléculas apresentam determinada resistência assim como o solvente. Então é necessário conhecer outros valores de viscosidade para caracterizar o disperso e o meio de dispersão e a ligação entre ambos.

3) Viscosidade Relativa

$$\eta_{rel} = \frac{\eta_{ab.solução}}{\eta_{ab.solvente}} = \frac{\eta}{\eta_0}$$

Dá indicação do tamanho da molécula presente na solução.

Se há grande interação entre o soluto e o solvente não há desvios de linearidade. O mesmo não acontece se não há essa interação.

4) Viscosidade Específica

$$\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0}$$

η - viscosidade dinâmica

η_0 - viscosidade do líquido

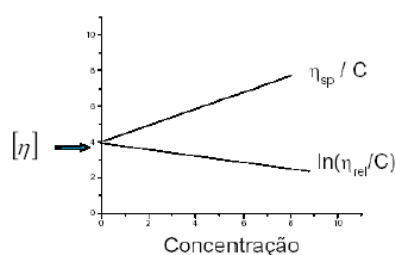
5) Viscosidade Inerente

$$\eta_{ine} = \ln\left(\frac{\eta_{rel}}{c}\right)$$

C – concentração

$[\eta]$ – unidades de conc^{-1}

Tipicamente, dL g^{-1}

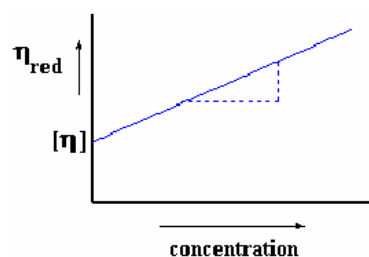


Pode ser um parâmetro de caracterização e serve para calcular a massa molar do composto e tem o mesmo significado da viscosidade intrínseca.

6) Viscosidade Reduzida

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{esp}}{c} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0 c}$$

[η]- é equivalente ao volume hidrodinâmico específico do soluto (Conc^{-1})



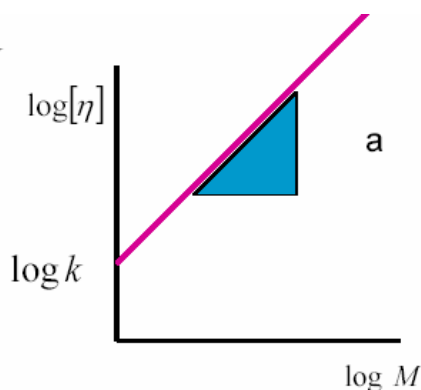
A plot of reduced viscosity vs. concentration.

7) Viscosidade Intrínseca

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red}$$

$$\log[\eta] = \log k + a \log M$$

$$0 < a < 1,0$$

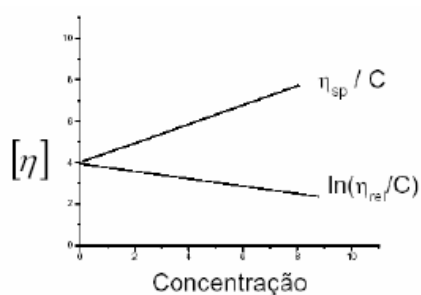


a = depende da configuração das cadeias do polímero e da interação com o solvente

Quer haja ou não grande interação entre o soluto e o solvente é a forma mais rigorosa para determinar a massa da partícula já que este valor está relacionado com o volume hidrodinâmico da partícula.

Não depende da temperatura, depende apenas da fase dispersa e da fase de dispersão.

VISCOSIDADE INTRÍNSECA E VISCOSIDADE INERENTE



Se as substâncias forem esféricas há uma relação proporcional entre a viscosidade intrínseca ou a inerente com a massa molecular da substância. Então, viscosidade intrínseca ou viscosidade inerente é directamente proporcional à massa elevado a $1/2$.

Equação de Mark-Howink
(Kuhn-Sakurada)

$$[\eta] = KM^{1/2}$$

Ou generalizando:

$$[\eta] = KM^a$$

e $0 < a < 1,0$

K e a = constantes características da fase dispersa, do meio de dispersão e da temperatura. a é característico da fase dispersa e tem a ver apenas com a conformação da molécula.

O valor de a está tabelado para as diferentes moléculas consoante a sua conformação e raio.

No caso de se tratar de soluções de macromoléculas pode obter-se linearidade entre viscosidade específica e concentração. Nesta situação a única forma de utilizar a relação é fazendo logaritmo da viscosidade em função do logaritmo da massa molar.

O declive da recta dá o grau de interacção entre as partículas e o peso molecular pode ser encontrado por interpolação gráfica.

Contudo, a viscosidade não dá o valor absoluto de peso molecular da substância. Através da viscosidade obtém-se a massa molecular média ou a massa molecular ponderal média, que tem a ver com a massa molecular das partículas e também com o número de partículas que têm determinada massa média; ou o peso molecular das partículas relacionado com o seu peso molecular na fase dispersa.

Massa molecular numérico média
(M_n)

$$\overline{M}_n = \frac{\sum n_i M_i}{\sum n_i} = \frac{\sum W_i}{\sum W_i / M_i}$$

Massa molecular ponderal média
(M_w)

$$\overline{M}_w = \frac{\sum n_i M_i^2}{\sum n_i M_i} = \frac{\sum W_i M_i}{\sum W_i}$$

- ▶ Os polímeros não têm massa molecular única
- ▶ Raros são os casos em que todas as cadeias têm o mesmo tamanho (excepção: DNA)



Para a maioria dos polímeros há uma variação de massa molecular e a representação do valor deste é dado por médias

Viscosidade: é função de

1. Forma e estrutura do soluto
2. Peso molecular do soluto
3. Concentração do soluto
4. Temperatura
5. Pressão

1. Viscosidade & estrutura da partícula

Devido às inúmeras conformações que a cadeia polimérica pode assumir, a melhor representação da sua morfologia é a de um novelo aleatório.

A dependência de $[\eta]$ com o formato molecular deve-se ao movimento de rotação da molécula, ou seja, ao coeficiente de fricção que cada segmento do polímero exerce sobre o centro de massa da partícula. $[\eta]$ é expressa em unidade de volume por unidade de massa e está directamente relacionada com o volume hidrodinâmico da partícula.

$[\eta]$ depende:

- massa molecular
- da interacção entre os segmentos do polímero e das moléculas do solvente

Quanto maior for a interacção, tanto maior (mais inchado) será o novelo do polímero.



↑interacção → ↑resistência → ↑viscosidade

Quando as interacções entre a partícula e o solvente são mínimas ou nulas, a partícula adquire uma morfologia aproximadamente de uma esfera rígida. O volume hidrodinâmico da partícula é mínimo.

Para partículas esféricas (segundo Einstein)

$$\eta_{esp} = 2,5\theta$$

θ - fracção de volume da solução, ocupado pelas partículas esféricas

A fracção de volume é também característico visto que depende apenas da viscosidade.

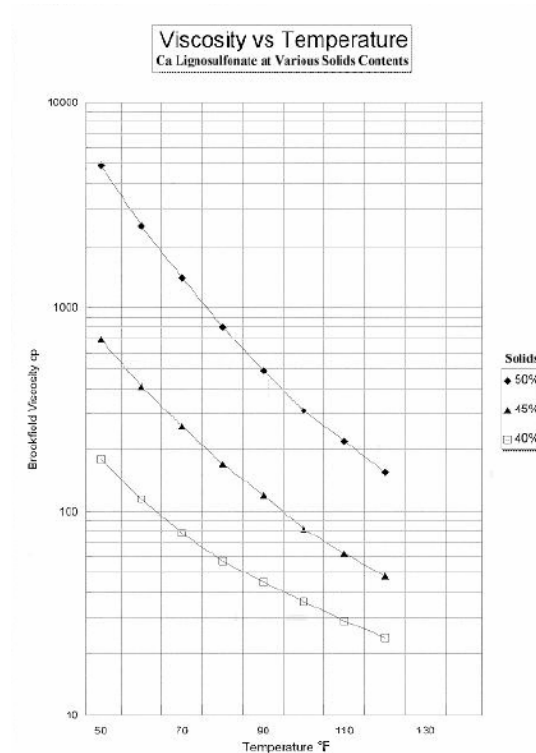
Modificação da equação por Simha para ter em conta partículas com outras formas (que não esférica)

$$\eta_{esp} = v\theta$$

V- coeficiente determinado por Simha para moléculas com diferente geometria

v está tabelado consoante a forma da partícula.

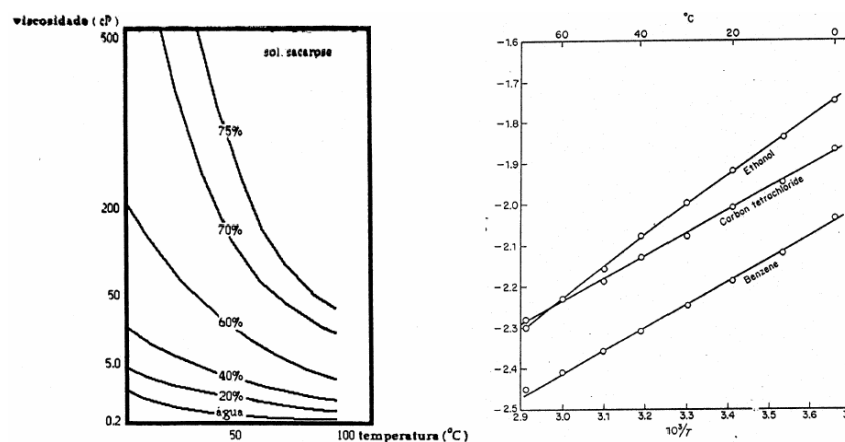
2.Viscosidade & temperatura ou pressão



Para Líquidos: diminui com o aumento da temperatura e aumenta com a pressão.

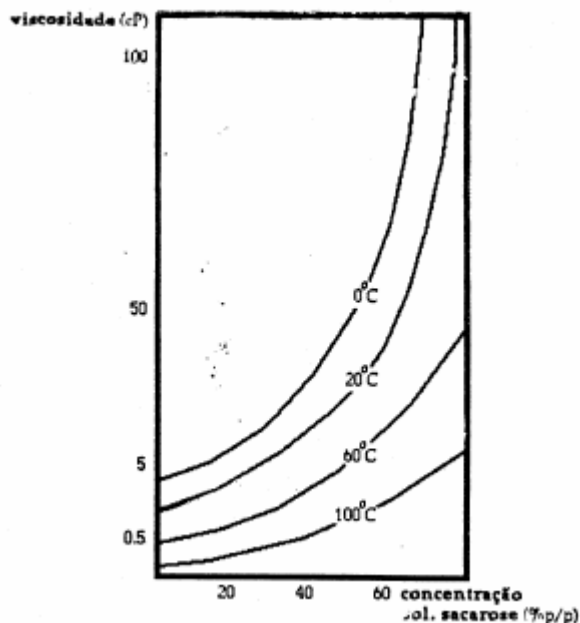
$$[\eta] = Ae^{E/RT}$$

Para Gases: aumenta com o aumento de temperatura e é praticamente independente da pressão.



3. Viscosidade & concentração

Se a solução é de partículas muito pequenas, deveria haver um aumento proporcional da viscosidade com a concentração de soluto. Em ambientes macromoleculares não acontece porque com o aumento da concentração de soluto as interações com o solvente tornam-se cada vez menores e o perfil é o seguinte :



Viscosidade versus concentrações de soluções de sacarose

É impossível através dos valores de viscosidade chegar à massa molecular. É necessário logaritmizar a função de modo a obter uma recta para o poder fazer.

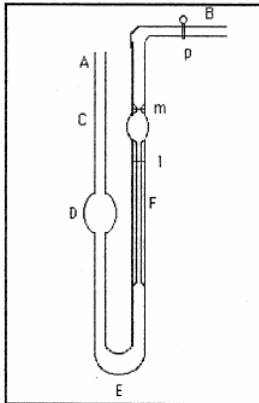
4. Viscosidade e forças intermoleculares

↑forças intermoleculares → ↑fricção interna → ↓viscosidade

Substância	T (°C)	η (mp)
Acetona	0	0,399
	25	0,316
Benzeno	10	0,758
	30	0,564
Etanol	0	1,773
	20	1,200
Água	10	1,3077
	20	1,0050
	30	0,8007
	40	0,6560
Glicerina	0	12110
	20	1490
	30	629
Azeite	20	100
Óleo	20	1000
Leite	0	4280

Reologia: medidas da viscosidade

Viscosímetro capilar



Representação esquemática do viscosímetro de Ostwald

Funcionamento: mede-se o tempo que um dado volume de líquido leva a escoar através de um capilar (v, r e l são constantes)

$$V = \frac{\pi r^4 t \Delta p}{8 l \eta}$$

$$\eta = \frac{\rho t}{K}$$

Δp é proporcional a ρ

Posteriormente, compara-se com um líquido de η e ρ conhecidos:

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{\rho_2 t_2}{\rho_1 t_1}$$

Desvantagem : é difícil calcular Δp e o raio do capilar. Assim, efectua-se a experiência com um líquido de viscosidade conhecida, normalmente água, e com o líquido que se pretende conhecer.

Viscosímetro do corpo cadente ou viscosímetro de Hoppler



Determinação absoluta da viscosidade.

Funcionamento: uma esfera de massa m e raio r é deixada cair num cilindro de líquido, medindo-se a velocidade terminal, V , por rigorosas aferições do tempo que a esfera demora a passar entre duas marcas.

$$V = \frac{2}{9} \times \frac{r^2 g}{\eta} \times (\rho_1 - \rho_2)$$

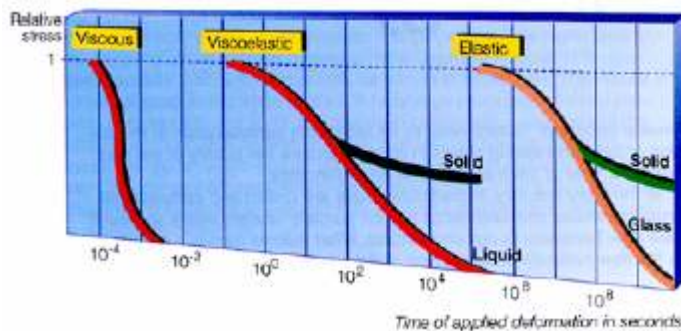
$$\frac{esp}{t} = \frac{2}{9} \times \frac{r^2 g}{\eta} \times (\rho_1 - \rho_2)$$

$$\eta = K(\rho_1 - \rho_2)t$$

Viscoselastividade

Fluidos viscoelásticos – demonstram propriedades viscosas (de fluidos) e elásticas (de sólidos).

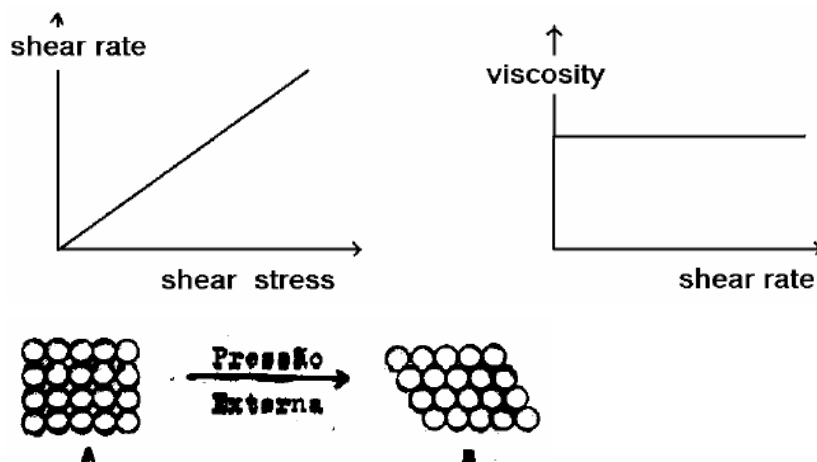
Exemplos: natas, base de gelado, manteiga de amendoim, manteiga de cacau...



Curvas representativas da diferença entre materiais viscosos, viscoelásticos e elásticos quando sujeitos a deformação

Para um líquido ideal qualquer tensão de corte aplicada produz sempre a mesma variação de velocidade de escoamento, ou seja, a tensão de corte é sempre proporcional ao escoamento.

Graficamente, traduzindo esta relação (velocidade de escoamento versus força), obtém-se proporcionalidade, o que significa que traduzindo a viscosidade em função do escoamento, se obtém um valor constante.



$$\tau = \eta D$$

Há substâncias em que à medida que o solvente se desloca, desloca também as moléculas de soluto, sendo sempre a velocidade de escoamento proporcional à força aplicada.

São exemplos a água, o leite, soluções de açúcar... São líquidos newtonianos.

Líquidos newtonianos : A viscosidade não se altera independentemente da força aplicada ao movimento das placas paralelas de líquido.

Há, no entanto, substâncias que apresentam desvios ao fluxo newtoniano. O seu estudo não pode ser feito em viscosímetros tradicionais, tem de ser efectuado em viscosímetros rotativos porque é importante saber qual a variação de viscosidade em função do stress aplicado.

Viscosímetro rotativo



Características:

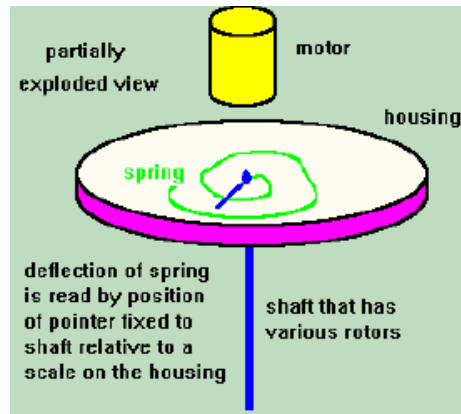
- Medem a viscosidade por detecção do “torque” que é necessário à rotação de um “spindle” mergulhado num líquido, a velocidade constante. O torque é proporcional à viscosidade.
- Actuam numa ampla zona de stress e de velocidade de laminação.
- Permitem fazer medições contínuas a uma dada velocidade de laminação durante extensos períodos de tempo (tixotropia e reopexia).
- Permitem distinguir o comportamento de vários tipos de fluxo.

Quais os tipos de viscosímetros rotativos mais comuns?

- De cilindro concêntrico (a taça move-se e o centro não)
- De cone ou de disco (a parte central move-se)

Como funcionam?

- Mede a viscosidade “sentindo” a força (torque) que é necessário aplicar para fazer rodar um cilindro (spindle) a uma velocidade constante quando está imerso no líquido em estudo.



A viscosidade calculada não é absoluta, é aparente, já que mede o stress de laminação versus a velocidade de laminação num determinado ponto da curva reológica. Na determinação da viscosidade absoluta no viscosímetro de corpo cadente a viscosidade é constante, o valor obtido é absoluto.

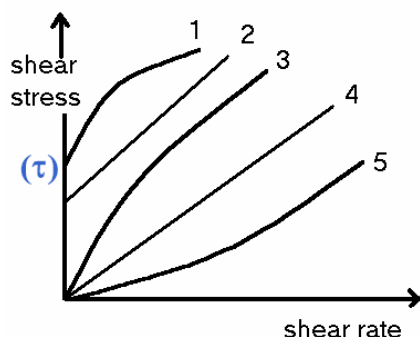
Em fluidos pseudoplásticos é necessário um pequeno torque para que a viscosidade se altere. Esse torque tem de ser superior para fluidos plásticos.

Tendo em conta a composição e a estrutura das substâncias que constituem as soluções, a viscosidade como parâmetro físico pode não variar com a pressão exercida sobre a solução, ou seja, as forças de coesão não se alteram para os diferentes valores de pressão ou stress de laminação. É o caso dos fluidos newtonianos.

O mesmo não acontece com soluções macromoleculares constituídas por polímeros que adquirem conformação diferente consoante o stress de laminação aplicado. São exemplos o fluido pseudoplástico, o fluxo plástico e o fluido dilatante.

Neste tipo de fluxo não é possível utilizar o viscosímetro de capilar. É necessário usar viscosímetros rotativos em que se controla a força de laminação e a velocidade de laminação.

Então, variando a viscosidade para cada um dos pontos da curva reológica, tanto no fluxo pseudoplástico como no plástico, o valor da viscosidade que o viscosímetro exhibe é apenas aparente e relaciona T em função de D .



D

Valores de viscosidade aparente para fluidos com comportamento não newtoniano comparados com o fluxo newtoniano.

- 1- Fluxo plástico
- 2- Fluxo de Bingham
- 3- Fluxo pseudoplástico
- 4- Fluxo Newtoniano
- 5- Fluxo dilatante

$$\eta_{ap} = \frac{\text{stress laminação}}{\text{velocidade laminação}} = \frac{\tau}{D}$$

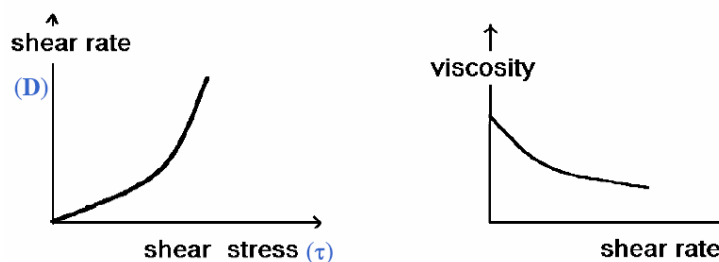
num dado ponto da curva

FLUXO PSEUDOPLÁSTICO

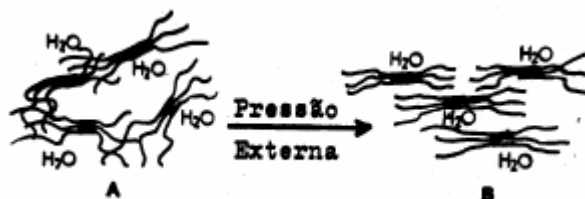
Materiais pseudoplásticos = diminuidores de laminação

A viscosidade vai diminuindo à medida que aumenta a velocidade de laminação.

A viscosidade estudada pelo aumento do stress de laminação versus velocidade de laminação tem o seguinte comportamento:



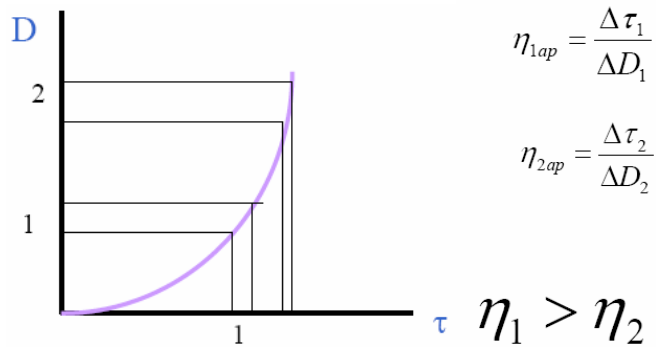
Quando submetidas a uma pressão, as partículas alinham-se, estreitando as distâncias entre si e diminuindo entre elas a quantidade de líquido constituinte da fase externa. A viscosidade do sistema diminui, proporcionalmente com o aumento da pressão.



No momento em que se pára de aplicar o stress de laminação, o polímero tem tendência a recolher e a retomar a sua conformação inicial, entrelaçadas e ligadas com as moléculas da fase externa, não havendo dependência deste fenómeno relativamente ao tempo.

$$\Delta D_2 = \Delta D_1$$

$$\Delta \tau_1 > \Delta \tau_2$$



$$\eta_{1ap} = \frac{\Delta \tau_1}{\Delta D_1}$$

$$\eta_{2ap} = \frac{\Delta \tau_2}{\Delta D_2}$$

No caso de polímeros de cadeia muito longa, como é o exemplo dos polissacarídeos, não se verifica o mesmo.

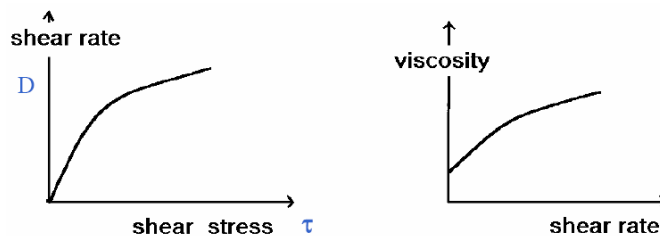
Exemplos:

Cremes da área da cosmética e da indústria farmacêutica.

FLUXO DILATANTE

Materiais pseudoplásticos = espessantes de laminação

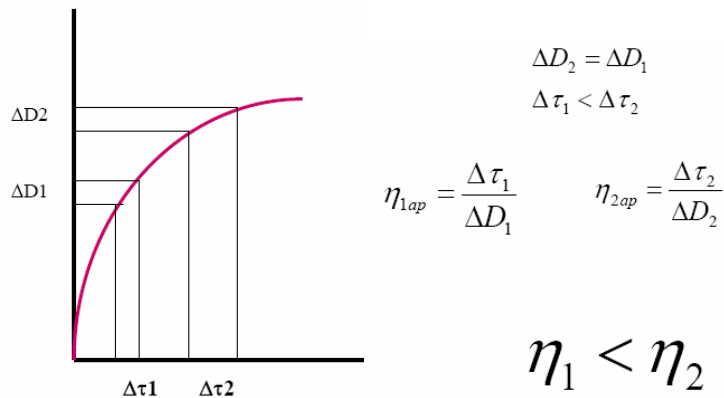
Característico de sistemas que contêm elevadas concentrações de partículas em suspensão, como é o exemplo da areia seca.



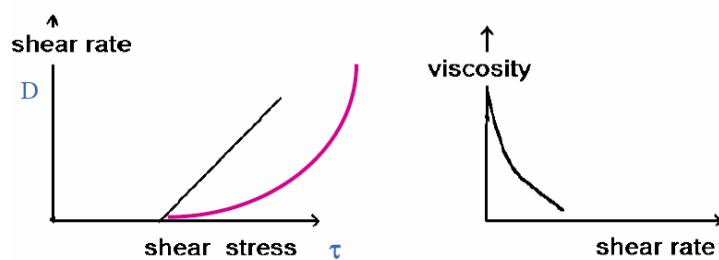
A viscosidade aumenta à medida que aumenta a velocidade de laminação. Isto tem a ver com a conformação que as partículas possam adquirir por ação de uma pressão externa. Os aglomerados de partículas expandem-se, o que leva a um maior atrito, ou seja, uma maior resistência ao escoamento.



Quando em repouso, as partículas formam um sedimento agregado.



FLUXO DE PLÁSTICO E CORPOS DE BINGHAM



A viscosidade diminui com o aumento do stress de laminação. Contudo, esse decréscimo só ocorre a partir de determinado valor de stress de laminação.

No entanto, há substâncias que se comportam como fluidos newtonianos, ou seja, revelam proporcionalidade entre a viscosidade e o stress, mas essa proporcionalidade só ocorre a partir de determinado valor. São os corpos de Bingham.

Exemplos: pasta de tomate, tintas, argilas, certas dispersões; creme de mãos; alguns ketchups; pasta dos dentes.

Nota: No caso das tintas, para que se tornem mais fluidas, sujeitam-se a uma pressão. A partir de determinado ponto, o valor de campo, a tinta torna-se menos sólida e mais fluida.

RESUMINDO...

Viscosidade: Parâmetro físico caracterizador da substância

Atrito que as moléculas exercem numa superfície.

Se:

- 1) \uparrow stress de laminação (= agitação = pressão) \rightarrow a viscosidade mantém-se \rightarrow
FLUIDO NEWTONIANO
- 2) \uparrow stress de laminação \rightarrow há alinhamento das moléculas $\rightarrow \downarrow$ viscosidade \rightarrow
FLUXO PSEUDOPLÁSTICO
- 3) \uparrow stress de laminação \rightarrow há expansão das moléculas $\rightarrow \uparrow$ atrito $\rightarrow \uparrow$ viscosidade \rightarrow
FLUXO DILATANTE
- 4) \uparrow stress de laminação \rightarrow a partir de certo ponto \downarrow viscosidade \rightarrow FLUXO
PLÁSTICO
- 5) \uparrow stress de laminação \rightarrow a partir de certo ponto há proporcionalidade entre
viscosidade e o stress de laminação, como no caso dos fluidos newtonianos \rightarrow CORPOS DE
BINGHAM

Então

$$\tau = \tau_0 + KD^n$$

τ - stress de laminação

τ_0 - valor de campo

D - velocidade de laminação

K e n - constantes empíricas

O valor de n dita a interação existente entre o solvente e as partículas em solução.

K e n são constantes químicas que permitem concluir:

Fluxo Newtoniano: $\tau_0 = 0$; $K = \eta$

Fluxo dilatante: $\tau_0 = 0$; $n > 1$

Fluxo Pseudoplástico: $\tau_0 = 0$; $n < 1$

Fluxo Plástico: $\tau_0 \neq 0$; $n < 1$

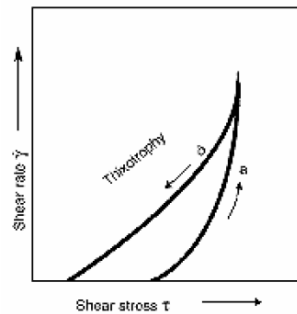
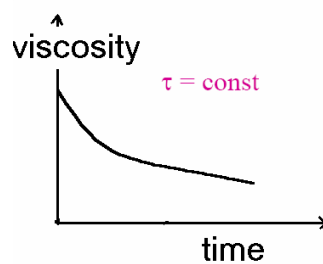
Fluidos não Newtonianos: dependentes do tempo (Tixotropia e Reopexia)

Há substâncias que após serem agitadas levam algum tempo a adquirir a conformação inicial, isto é, a propriedade reológica que lhe é características; plasticidade, pseudoplasticidade ou dilatância depende do tempo.

Estas substâncias têm TIXOTROPIA e REOPEXIA.

TIXOTROPIA

(comum em química e indústria alimentar)



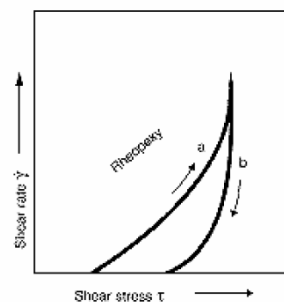
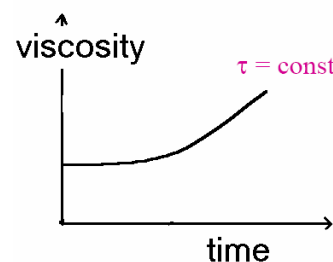
Está relacionada à pseudoplasticidade e à plasticidade. Ao longo do tempo diminui a viscosidade à medida que aumenta a força aplicada.

Exemplo:

São exemplo algumas pomadas. Ao serem aplicadas aumenta a sua fluidez, ou seja, diminui a sua viscosidade. As pomadas não devem ser demasiado fluidas, mas também não devem demasiado viscosas, pois neste caso, seria necessário aplicar uma força durante muito tempo para que se dessem as trocas entre as substâncias e a epiderme.

REOPEXIA

(bastante raro)



Está relacionada à dilatância. Ao longo do tempo aumenta a viscosidade, à medida que diminui a força aplicada.

Exemplo:

A tinta. Após ser aplicado o valor de campo, a tinta fica muito fluida. Quando cessa a aplicação da força, vai aumentando a sua viscosidade.

O tempo que as moléculas demoram a voltar ao estado normal, pode ser controlado por exemplo através da tecnologia. Nos alimentos esse controlo é feito através da cartaginina, proveniente da alfarroba, que tem comportamento tixotrópico.

IMPORTÂNCIA DA VISCOSIDADE:

- Parâmetro físico caracterizador das substâncias
- Estudo de alterações dos fluidos corporais

Reologia. Aplicações

- ☐ Materiais de construção (cerâmica e tijolo)
- ☐ Fabricação de tintas
- ☐ Química alimentar e processamento do alimento (textura dos gelados, pasta, alimentos processados, sobremesas)
- ☐ Indústria de cosmética

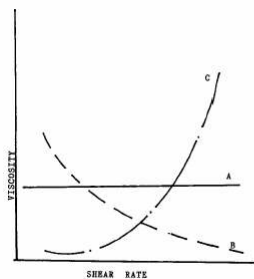


Figure 2 Typical flow curves.

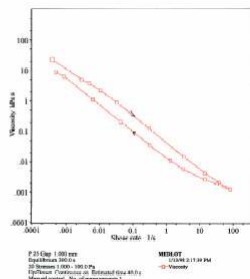


Figure 3 Thixotropic loop of a medical cream.

- ☐ Química de polímeros (solução e fundidos)

O grau de tixotropia (tempo que a substância demora a voltar ao normal) é quantificável de duas formas:

- Pela variação da viscosidade em função da velocidade de laminação;
- Fazendo um estudo para diferentes velocidades, forças de laminação e tempo. Ir reduzindo o stress de laminação e registar a velocidade de laminação correspondente.

Desse registo obtém-se o maior ou menor grau de tixotropia.

A viscosidade é mais baixa no início que no fim.

Na reopexia acontece o mesmo. Uma substância que apresenta este comportamento é o iogurte. Após ser mexido, se deixado em repouso, a viscosidade aumenta.

Óptica Geométrica

Natureza da Luz

O que é a luz?



Isaac Newton (1643-1727)

Teoria Corpuscular

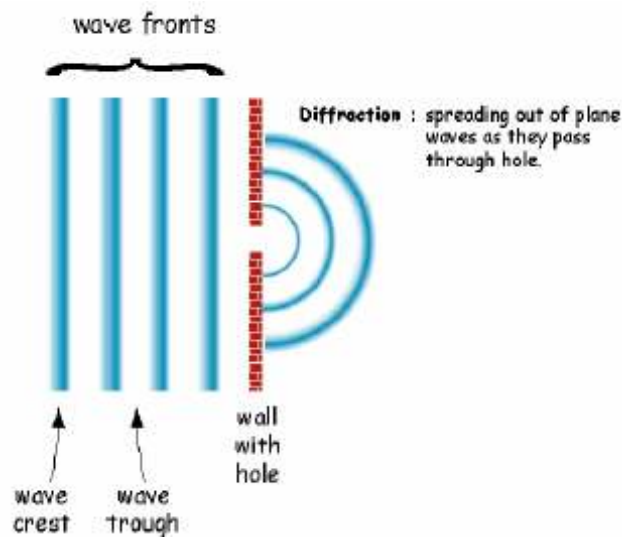
- A luz é composta por um conjunto de partículas emitidas por uma fonte.



Christian Huygens (1629-1695)

Teoria ondulatória

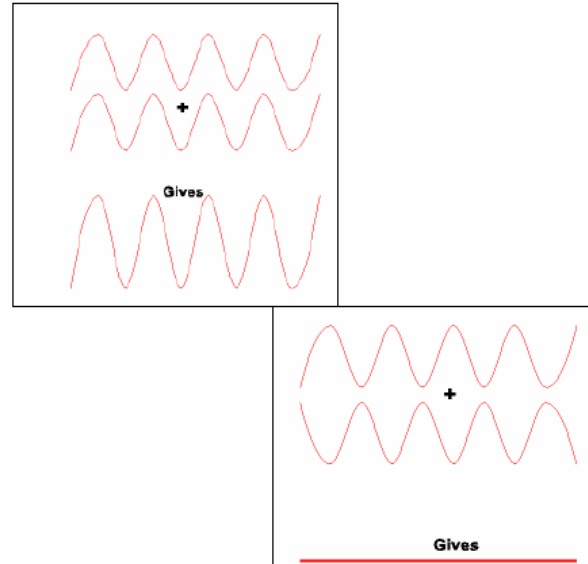
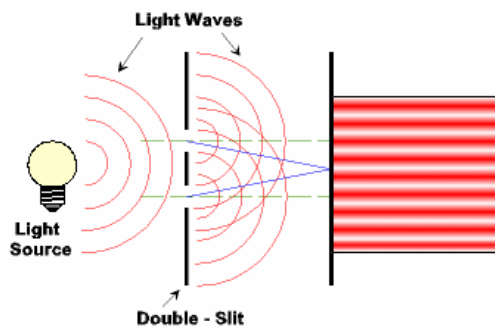
Difracção (capacidade da onda contornar um obstáculo (ou fenda) ao ser interrompida por ele)



Thomas Young (1773-1829)

- Adepto da teoria ondulatória

Interferência



James C. Maxwell (1831-1879)

- Luz = onda electromagnética de elevada frequência

$$v_{\text{luz}} = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$$

?

Então, como explicar o efeito fotoelétrico?



Albert Einstein (1879-1955)

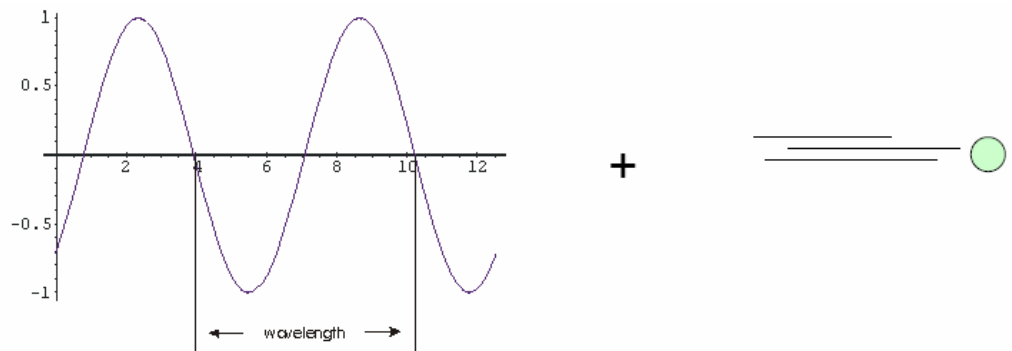
- A luz surge com base na dualidade onda/partícula

luz = onda electromagnética composta por discretos pacotes de energia (fotão) , sendo a energia de cada fotão igual:

$$E = h \times f$$

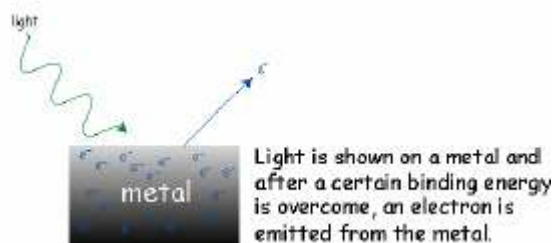
$h = 6,63 \times 10^{-34} \text{ J.s}$ (constante Planck)

O modelo, hoje em dia aceite para a luz e que explica os seus comportamentos, é dualístico: a luz exhibe, umas vezes propriedades de partícula, outras vezes propriedades de onda.



A luz é uma radiação electromagnética capaz de provocar sensação visual num observador normal. Transporta uma energia chamada energia radiante que é capaz de sensibilizar as células da nossa retina e provocar a sensação de visão

Luz como partícula



Certas interacções da luz com a matéria requerem a radiação seja visualizada como uma partícula ou um pacote de energia denominada fotão.

$$\Rightarrow E = h \nu$$

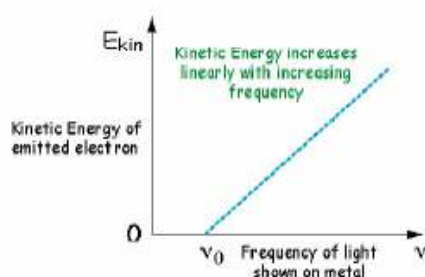
$\Rightarrow E$ - energia em joules (J)

$\Rightarrow h$ - constante de Planck ($6,63 \times 10^{-34}$ J s)

Uma vez que a frequência e o comprimento de onda são inversamente proporcionais, a energia de um fotão é descrita em termos de comprimento de onda pela equação:

$$\Rightarrow E = h c / \lambda$$

c - velocidade da luz ($3,0 \times 10^8$ m/s).

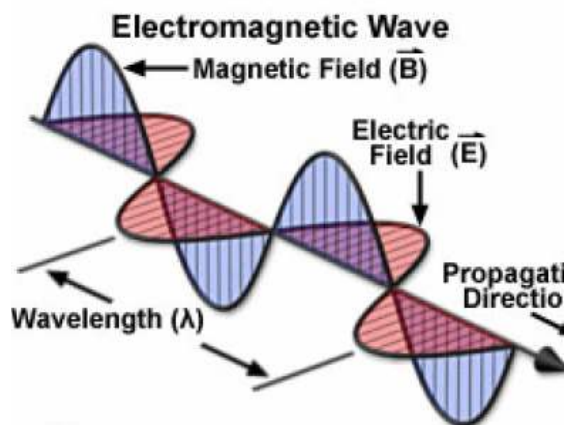


Luz como onda (REM)

Onda

- Vibração que transporta energia de um ponto para o outro mas não transporta matéria
- Constituída por um campo eléctrico e um campo magnético que se propagam na mesma direcção mas com planos de vibração perpendiculares.

O campo magnético provoca a distribuição de electrões, ou seja, produz um campo eléctrico. Este, por sua vez, produz um campo magnético.



Campos eléctricos (E) e magnéticos (M) oscilantes que se propagam com uma velocidade de

$$C = 3 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$$

(velocidade da luz no vácuo)

E e M são grandezas vectoriais com direcção determinada, perpendiculares entre si e também perpendiculares à direcção de propagação da onda.

Características das R.E.M: Representação matemática

Características das ondas:

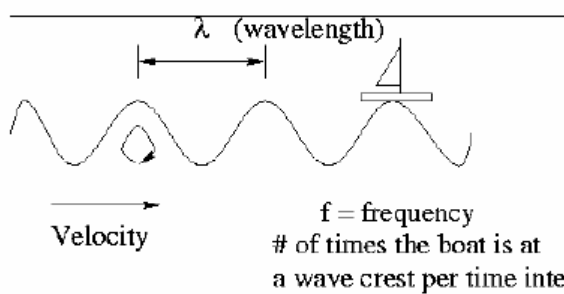
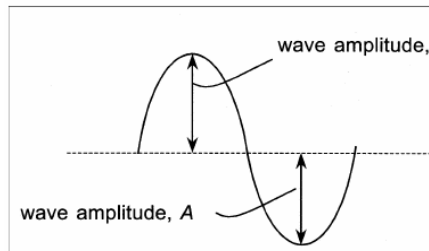
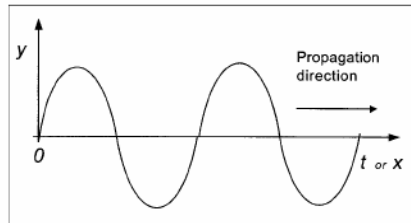
- As ondas electromagnéticas não necessitam de um meio material para se propagar, podem-se propagar no vazio;
- Há trocas de energia entre os dois campos;
- As ondas propagam-se segundo a teoria de Maxwell a altas frequências;
- São oscilações periódicas que se propagam a três dimensões numa infinidade de direcções.

A onda luminosa mais simples é uma onda sinusoidal pura porque um gráfico da intensidade do campo E ou do M, traçada em qualquer momento, ao longo da direcção de propagação, é uma função de seno.

$$y = A \sin \theta$$

A - altura da onda = amplitude da onda (m)

θ - fase da onda (rad)



$$\theta = \omega t$$

ω - frequência angular (rad s^{-1})

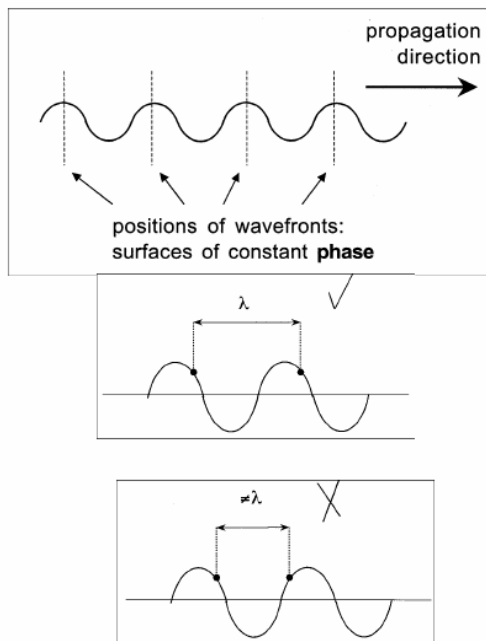
$$\omega = 2\pi f$$

f - Frequência (f) nº de oscilações ou vibrações por segundo num ponto da onda (Hz ou cs^{-1})

$$T = \frac{1}{f}$$

Período de oscilação = Período (T) - tempo que uma onda demora a completar um ciclo (s)

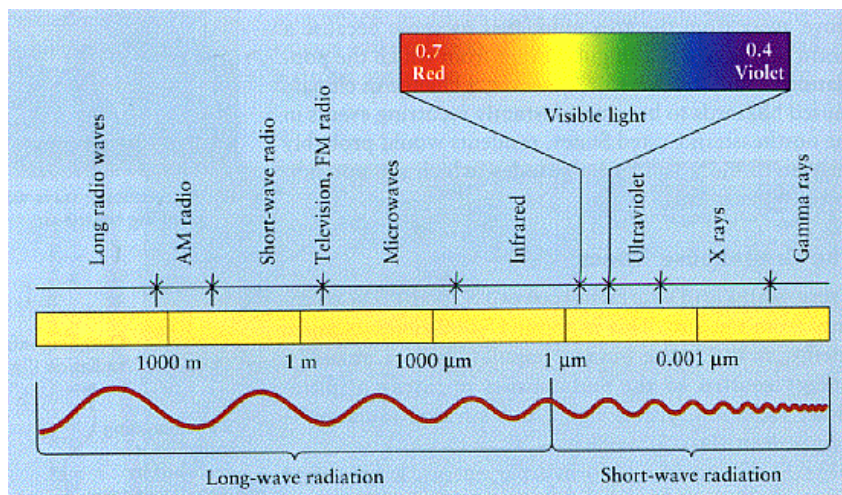
- ☐ A onda repete-se. É periódica.
- ☐ O espaço entre as frentes de onda são constantes – isto é o comprimento de onda (λ)
- ☐ Unidades: m; μm ; nm; A°
- ☐ (distância, ao longo da direcção de propagação, entre dois pontos com a mesma fase (pontos que ocupam posições equivalentes na onda ou distância linear entre dois máximos sucessivos ou mínimos sucessivos).



Então...

- A luz não pode ser apenas constituída por uma radiação eléctrica e uma radiação magnética, pois tendo em conta esta constituição, não seria explicable o fenómeno fotoeléctrico.
- Segundo Einstein, existe uma fotoenergia transportada por partículas – os FOTÕES.
- O campo magnético e o campo eléctrico, embora se propaguem na mesma direcção, têm planos de vibração em planos complementares, mas ambos na mesma direcção.
- A representação matemática leva em conta parâmetros electromagnéticos.

O Espectro Electromagnético



*

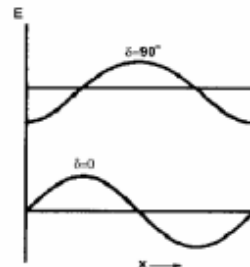
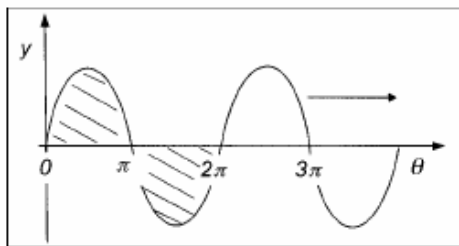
* Na região do visível as diferenças de comprimento de onda manifestam-se com diferenças de cor.

Características das R.E.M: Representação matemática

? Como se faz a propagação da onda electromagnética?

A propagação da onda vai-se repetindo no tempo e uma forma de representar a onda é em função de um dos seus parâmetros ondulatórios relacionados com o tempo ou espaço.

- Relembre que a frequência é o nº de oscilações completas por segundo
- Comparando agora a onda directamente com a função de seno
- A zona marcada corresponde ao 1º ciclo completo de oscilação (um ciclo é completo no tempo T)
- Ao longo do eixo dos x, a medida angular θ é a fase da onda (ou ângulo de fase que é a medida do ângulo de deslocamento da oscilação inicial em relação a um sistema inerte)
- Um ciclo completo para a onda corresponde a uma variação na fase de 2π radianos



Comparação entre as Fases e o Início da Perturbação em x.

Assim, a função matemática que define essa relação é

$$y = A \sin(\omega t + \theta)$$

Representa o campo eléctrico

Amplitude ou o valor máximo que pode tomar y

t = tempo
 ω = velocidade angular
 θ = ângulo de fases

Como $\omega = 2\pi f$

$$y = A \sin(2\pi f t + \theta)$$

PARÂMETROS ONDULATÓRIOS:

- Comprimento de onda λ
- Período T
- Amplitude

A altura é função da amplitude da onda, um dos parâmetros ondulatórios.

Para além deste parâmetro ondulatório, há outros.

A ondulação tem a ver com a frequência angular, ou seja, tem a ver com a rotação da onda e com o tempo que ela demora a executar esta rotação.

O inverso da frequência é o período.

$$u = 1/T$$

λ – Comprimento de onda (m)

→ Distância entre dois pontos da onda a partir dos quais se repetem as mesmas características;

→ Distância entre dois máximos de onda;

→ Parâmetro ondulatório que vai alterando quando a radiação electromagnética, vector eléctrico ou vector magnético, interage com a matéria por onde passa.

Por poderem existir ondas com vários comprimentos de onda, obtém-se um espectro electromagnético de radiações.

Lembrar:

- luz visível

- cor

RADIAÇÕES GAMA

→ Baixo comprimento de onda

→ Elevada energia da radiação

↓
Úteis em diagnóstico apesar de poderem aumentar a emissão de electrões de determinado meio e serem prejudiciais à saúde.

RAIOS X

↓
Úteis em diagnóstico médico e em ensaios físico – químicos de alguns materiais, nomeadamente o aspecto das superfícies que possuem substâncias que são investigados através de refacção de raios X.

UV

→ Usado em técnicas de espectrofotometria. A maioria das análises são feitas com base nestas radiações.

→ Muito usadas para detecção de materiais (como sangue em superfícies).

IV

- Identificação de compostos químicos.
- Espectrofotometria de IV – técnica de identificação de substâncias.

NOTA: Há sobreposição de radiações. Há uma zona do IV, zona do IV próximo, muito utilizado em análise farmacêutica.

MICRO – ONDAS

→ Utilidade em laboratório na destruição de matéria orgânica, tendo substituído agentes químicos ácidos anteriormente utilizados.

A representação matemática de uma onda é a relação de um dos parâmetros ondulatórios em função do ângulo de propagação da onda, que se refere apenas a uma propagação luminosa.

Se se considerar um conjunto de propagações luminosas que passam num espaço num determinado tempo, admite-se que, para além de uma velocidade angular, pode ainda haver um desfasamento de uma onda em relação à outra.

R.E.M: frente de onda

Embora se saiba que a propagação da onda se faz num campo eléctrico que origina o magnético e vice-versa, o que acontece é que há um determinado princípio da propagação.



Atirando uma pedra para o lago formam-se circunferências em torno da pedra. São as frentes de onda, há uma região do espaço onde se podem inscrever todas as cristas de onda.

Fazendo uma analogia, as circunferências, contidas num plano, representariam todos os máximos de onda – FRENTES DE ONDA.

As frentes de onda esféricas originam outras frentes de onda que têm a mesma frequência e velocidade e que se propagam na mesma direcção. Segundo o conceito de Huygens, as frentes de onda provocam novas frentes de onda. Tornam-se cada vez menos definidas à medida que se afastam do centro.

Quando a fonte de radiação está muito próxima da frente de onda, consegue-se definir uma circunferência perfeita, mas quando está longe, é menos definido, mas sempre paralelo à fonte de radiação.

AS FRENTES DE ONDA...

- ☐ Não necessitam de qualquer meio material para se propagarem (podem propagar-se no vácuo!)
- ☐ São oscilações periódicas, tridimensionais que se propagam numa infinidade de direcções
- ☐ A direcção de propagação da onda é sempre perpendicular à superfície da frente de onda em cada ponto

- Frente de onda – superfície que passa sobre todos os pontos do meio alcançados pelo movimento ondulatório, no mesmo instante. A perturbação em todos esses pontos tem a mesma (Ex: Superfície que contém todos os máximos ou os mínimos da onda)
- As frentes de onda de uma fonte pontual são esféricas e o raio da esfera é perpendicular à sua circunferência em cada ponto
- Quando a fonte está demasiado longe, os raios das esferas são tão largos que parecem, ao observador, ondas planas

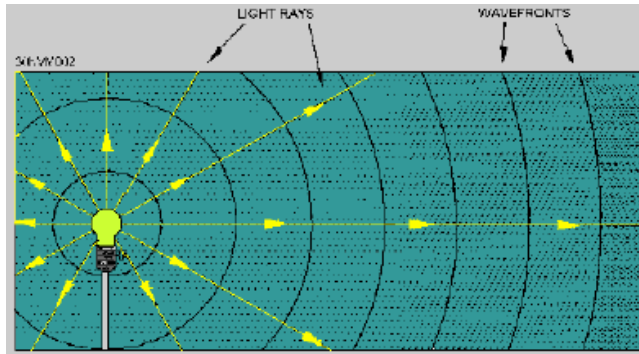
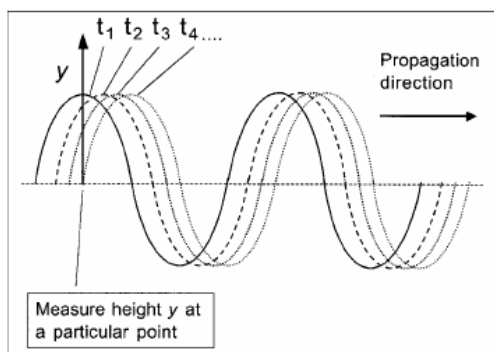


Ilustração 1 – Uma onda real representada em 3 dimensões

Propagação da R.E.M.

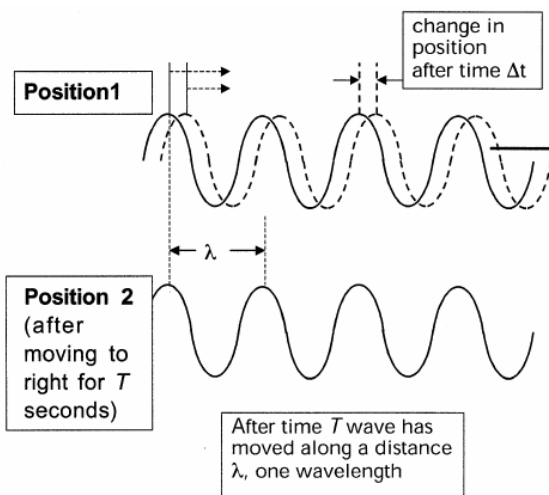
- A onda propaga-se em linha recta
- A onda move-se da esquerda para a direita, progredindo no tempo $t_1 \rightarrow t_2 \rightarrow t_3 \rightarrow t_4$
- A altura da onda y , medida num ponto fixo, varia com o tempo, oscila para cima e para baixo (ou “ciclos”) entre $+A$ e $-A$. A amplitude não varia.



Velocidade da R.E.M

Uma outra propriedade que é característica da onda e que determina muitos fenómenos cósmicos é a sua velocidade.

A sua velocidade corresponde ao deslocamento da radiação ao longo do tempo.



Considere uma onda que se propaga ao longo da direcção horizontal, partindo da posição 1 e movendo-se para a posição 2, num tempo T correspondente ao período da onda.

Sabendo que

$$v = \frac{\text{distância percorrida}}{\text{determinado tempo}} = \frac{\lambda}{T}$$

Então...

Velocidade (v) produto da frequência com o comprimento de onda (ms^{-1} ou cms^{-1})

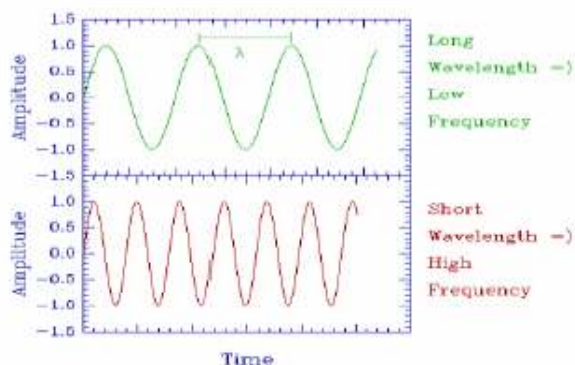
$$v = \frac{\lambda}{1/f} = f\lambda \quad \text{e} \quad \boxed{v = f\lambda}$$

Pode-se relacionar o deslocamento em função de um parâmetro que pode ou não manter-se constante dependendo do meio material, mas que varia ao longo do tempo $\rightarrow \lambda$.

λ repete-se por ciclos, por períodos. Então a velocidade está em função de λ e T.

Sabendo que $T=1/f$, obtém-se uma relação da velocidade em função de f e λ . A f não se altera mesmo que se mude o meio material, é a mesma em diferentes meios materiais, com densidades ópticas diferentes, isto é, se a densidade óptica é diferente, o empacotamento das moléculas também é diferente. A f ou o T com que a onda se propaga são os mesmos. É λ que varia.

Para qualquer onda, independentemente do seu λ , a velocidade de propagação no vácuo é sempre $3,0 \times 10^8 \text{ m/s}$, descoberto por Maxwell e Huygens.



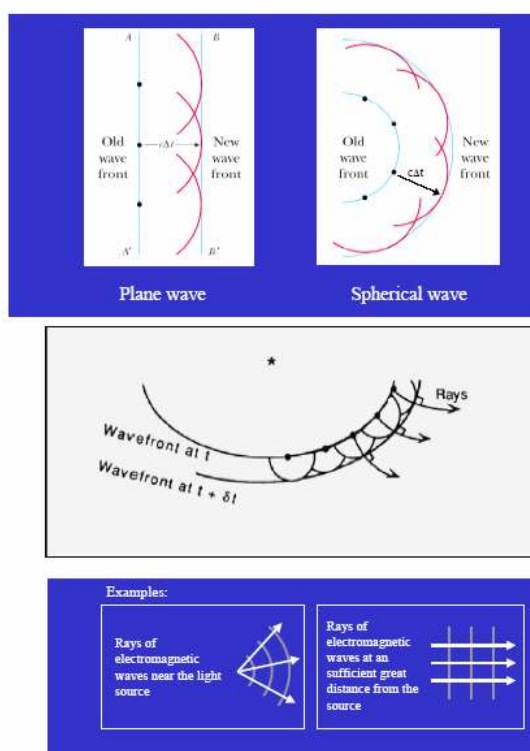
Noutro meio, a velocidade de propagação é sempre mais baixa do que a velocidade de propagação no vácuo porque há interacção do vector eléctrico com o meio material. A alteração da velocidade da luz com λ é um fenómeno que se denomina dispersão.

Atenção!

- A frequência (f) e o período (T) de uma onda são características fornecidas pela fonte geradora,
- O comprimento de onda (λ) e a velocidade (v) dependem do meio de propagação
- A velocidade da luz no vácuo é a mesma para todos os comprimentos de onda
- Em substâncias materiais a velocidade da luz é menor do que no vácuo
- A velocidade da luz varia com o comprimento de onda = Dispersão

$$V_{\text{subst. Materiais}} < V_{\text{vazio}}$$

Princípios da Propagação da Luz



Princípio de Huygens (1690) ou construção de Huygens:

Descreve como se movem as frentes de onda no espaço

b cada ponto de uma frente de onda servirá de fonte de ondas esféricas secundárias que se propagam em todas as direcções com a mesma velocidade, frequência e comprimento de onda que a frente de onda de que derivam.

Então...

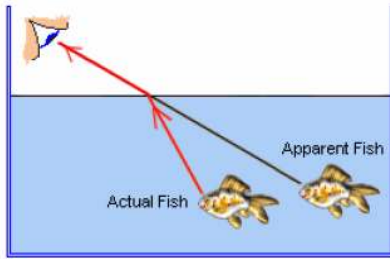
Os círculos formados quando se “atira a pedra”, são motor para a formação de outras frentes de onda que vão progredindo.

No meio em que a fonte da radiação está muito próxima das frentes de onda, observam-se nitidamente as circunferências. Se estão distantes não são tão definidos; os círculos são planos paralelos à fonte que progridem numa determinada direcção.

De acordo com estas características da radiação electromagnética, podem resultar vários fenómenos provocados pela interacção da matéria com a luz.

De qualquer radiação, parte é reflectida, parte é absorvida e parte é refractada.

1. REFRAÇÃO



Uma radiação projecta-se quando atravessa um meio com densidade óptica diferente de outro. O seu percurso é desviado e é originada uma radiação com velocidade e direcção diferentes.

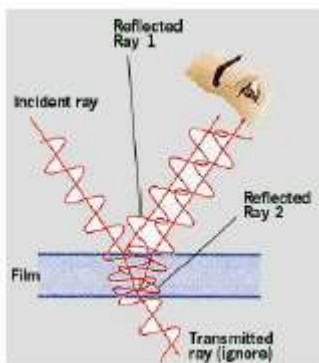
Havendo reflexão há sempre refração.

Havendo refração há sempre reflexão.

A onda perde a identidade quando atinge um meio material.

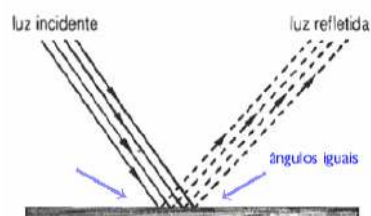
A radiação incide na superfície de propagação de dois meios. Se a radiação atinge, há um plano perpendicular a outro onde estão contidas todas as cristas da onda.

2. REFLEXÃO

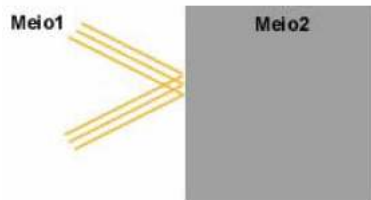


A radiação regressa ao meio de onde parte e não muda de velocidade, muda apenas de direcção de propagação.

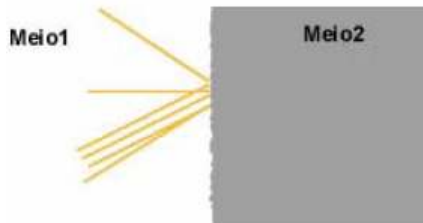
Mesmo obedecendo às leis da reflexão a luz pode reflectir-se de várias maneiras



Se o meio que reflecte é polido e plano, o regresso ao mesmo meio faz-se com um ângulo igual. É uma reflexão normal – Reflexão especular.

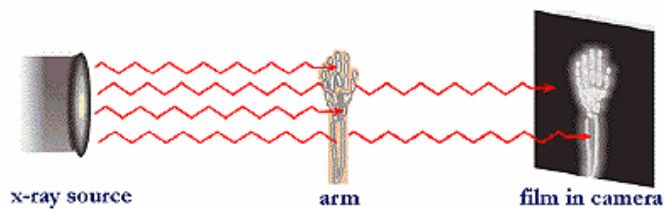


Se o meio material é ondulado, a reflexão é difusa, e cada raio, aleatoriamente, depois de reflectido, segue direcções diferentes. É do resultado da reflexão especular e da difusa que se obtêm fotografias.

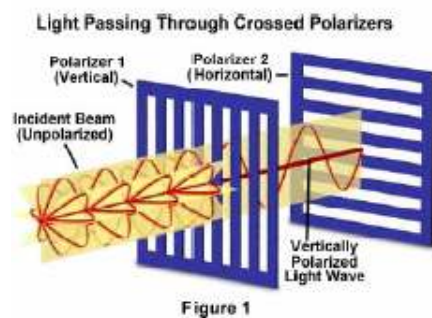


A razão entre o seno do ângulo de reflexão de incidência e o ângulo de reflexão é constante para determinados meios materiais. Esta constante chama-se índice de refração e é característico e identificador do par óptico.

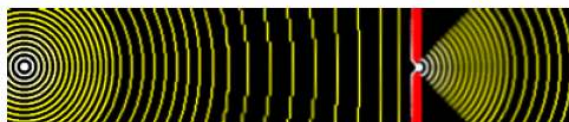
3. ABSORÇÃO



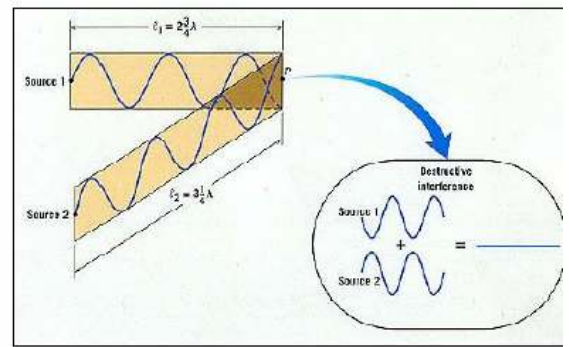
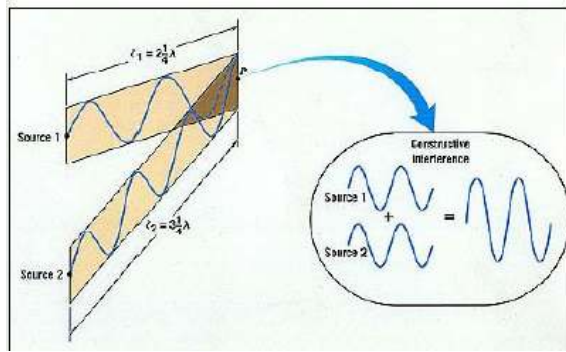
POLARIZAÇÃO



DIFRAÇÃO – a radiação passa através de pequenos orifícios.

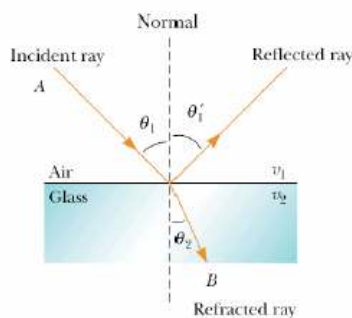


INTERFERÊNCIA – fenómeno óptico que resulta de interacção de duas radiações.



Se há amplificação da radiação a interferência é construtiva. Pode ser destrutiva se as radiações se anulam quando chocam.

Reflexão e Refracção: Leis de Snell



Lei da Reflexão

$$\theta_i = \theta_r$$

θ_i - ângulo de incidência

θ_r - ângulo de reflexão

o raio incidente, o raio reflectido e a normal à superfície de separação dos dois meios, no ponto de incidência, estão no mesmo plano

Lei da Refracção

$$\frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \text{const.}$$

Princípio de Huygens aplicado à refracção

Sejam v_1 e v_2 as velocidades de propagação da REM nos dois meios

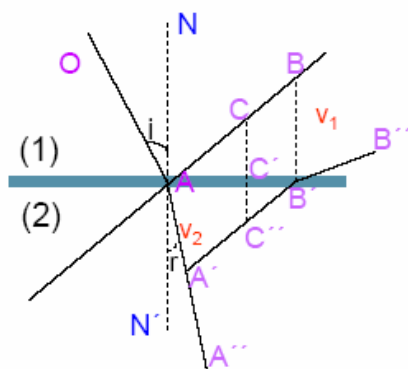
Ao fim de 1 segundo, um ponto da superfície (B) encontra-se em (B')

$$v_1 = \frac{BB'}{t} \Rightarrow v_1 = BB'$$

Para o ponto C, e para o mesmo tempo, a REM percorre um certo espaço (C-C'), no meio (1) e (C'-C''), no meio (2)

$\frac{CC'}{v_1}$ Tempo gasto a percorrer a distância CC' com a velocidade 1 e d o espaço percorrido no meio 2, com a velocidade v_2

$$1 - \frac{CC'}{v_1} = \frac{d}{v_2}$$



■ A um raio incidente AO, normal à superfície de onda AB, corresponde um raio refracto AA', normal à nova superfície de onda A'B''.

$$v_2 = AA'$$

■ Dois triângulos rectangulares ABB' e AA'B'

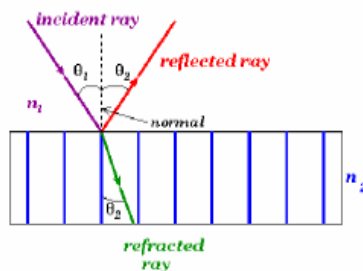
$$BB' = v_1 = AB' \sin i$$

$$AA' = v_2 = AB' \sin r$$

$$\frac{\sin i}{\sin r} = \frac{v_1}{v_2} = \text{const.}$$

■ Portanto

Índice de Refracção



■ $n_{(1,2)}$ ou $n_{(2/1)}$

índice de refração do meio 2 em relação ao meio 1

■ Considerando um feixe de luz monocromática, caminhando do vácuo e fazendo um ângulo de incidência de θ_1 com a normal à superfície da substância e um ângulo de refração de θ_2 . A constante da lei de Snell chama-se **índice de refração absoluto** da substância

Indices of refraction of some common substances for sodium light ($\lambda = 5890 \text{ \AA}$)

Medium	n
Air (at 1 atm and 20°C)	1.0003
Water	1.33
Ethyl alcohol	1.36
Fluorite	1.43
Fused quartz	1.46
Glass, crown	1.52
Sodium chloride	1.53
Carbon disulfide	1.63
Glass, dense flint	1.66
Methylene iodide	1.74

(Note that they are all greater than 1)

Índice de Refracção Absoluto

■ Índice de refração absoluto e relativo

$$\frac{\text{sen } i_{(\text{vácuo})}}{\text{sen } r_1} = n_1 \quad \text{e} \quad \frac{\text{sen } i_{(\text{vácuo})}}{\text{sen } r_2} = n_2$$

■ Ou

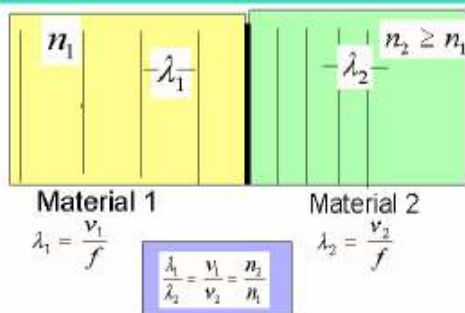
$$\frac{c}{v_1} = n_1 \quad \text{e} \quad \frac{c}{v_2} = n_2$$

■ Como

$$n_{2/1} = \frac{n_2}{n_1} = \frac{\frac{c}{v_2}}{\frac{c}{v_1}} = \frac{v_1}{v_2}$$

Índice de refração

Velocidade da luz e índice de refração



material	Speed of Light (100 million m/s)	Index of Refraction ($n=c/v$)
vacuum	3	1
ice	2.29	1.309
water	2.26	1.33
glass	1.8	1.66
diamond	1.24	2.42
New	4 m/s !!!!!	100 million !!!

■ Comprimento de onda e índice de refração

- Quando a luz caminha de um meio para outro, a sua velocidade varia mas a frequência não se altera

■ Como

$$v = f \cdot \lambda$$

$$f_1 = f_2 \Rightarrow \frac{v_1}{\lambda_1} = \frac{v_2}{\lambda_2}$$

■ Sabendo que

$$\frac{n_1}{n_2} = \frac{c/v_1}{c/v_2} \Rightarrow \frac{n_1}{n_2} = \frac{\lambda_2}{\lambda_1}$$

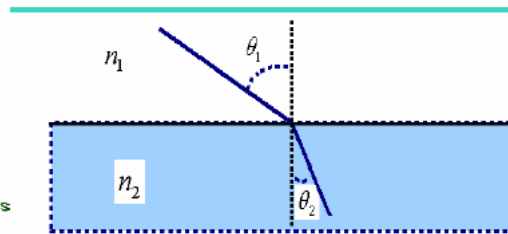
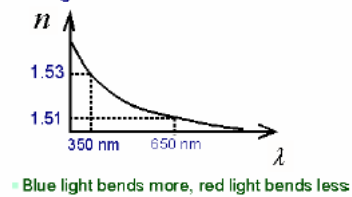
■ Se o meio 2 é o vácuo $n_2=1$

$$n_1 = \frac{\lambda}{\lambda_1} \quad \text{ou} \quad \lambda_1 = \frac{\lambda}{n_1}$$

Índice de refração

Em resumo:

Eg. Silica glass:



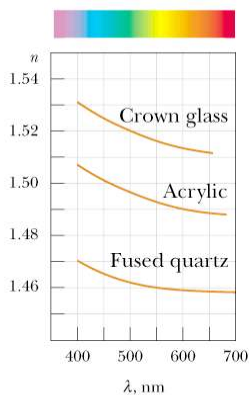
$$\frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \frac{\lambda_1}{\lambda_2} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{n_2}{n_1}$$

Refractómetro da aula tem um monocromador que roda para compor os diferentes comprimentos de onda da radiação que é dispersa por atravessar um meio que tem uma determinada densidade óptica, nomeadamente o vidro.

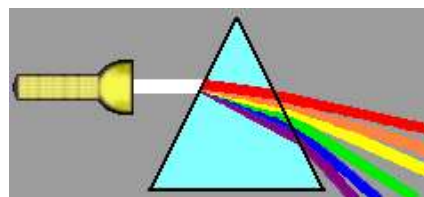
Na maioria das situações, o índice de refração varia de uma forma tendencial com o comprimento de onda. Nestas situações, a dispersão é normal, (embora existam situações cuja dispersão é anómala) isto é, para determinado comprimento de onda, há bandas de adsorção que fazem com que a variação de n não seja com esta forma de λ .

Dispersão

■ Uma vez que o índice de refração é função do comprimento da onda, ondas de luz de diferentes comprimentos de onda são desviadas em ângulos diferentes



■ Como o índice de refração decresce com o aumento do comprimento de onda, as ondas de menor comprimento de onda são mais desviadas do que as ondas de luz de maior comprimento de onda



Fenómeno que resulta da variação de índice de refração em função de comprimento de onda.

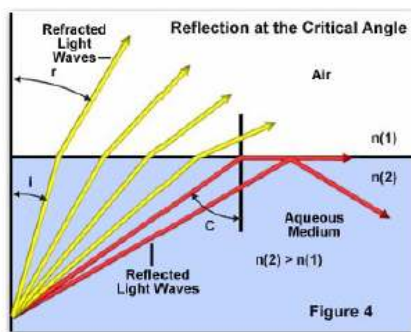
De acordo com os diferentes comprimentos de onda da radiação, atinge um desvio que se faz sentir com maior ou menor intensidade depois da radiação electromagnética atravessar, por exemplo, um prisma “de vidro”.

CONSEQUÊNCIA DA DISPERSÃO

Exemplo: A chamada “Floresta Azul” situada na Austrália. Esta floresta, de azul não tem nada. O que acontece é que se trata de uma floresta muito densa de um tipo de árvores que exsuda uma seiva que se espalha pelo chão e em função da inclinação da luz solar, há dispersão da luz. Pelo gráfico percebe-se que a radiação azul é a que se desvia mais do trajecto original da luz.

É por isso, por ser esta dispersão que se faz sentir com muito maior intensidade que as outras, que a floresta acaba por ser “azul”. (consequência da dispersão da luz)

Reflexão interna total: ângulo crítico



■ L- ângulo Limite ou ângulo crítico

$$n_1 < n_2 \quad \sin \theta_c = \frac{n_1}{n_2} \sin 90^\circ = \frac{n_1}{n_2}$$

$$n_{2/1} = \frac{n_2}{n_1} = \frac{\text{sen } i}{\text{sen } r} = \frac{\text{sen } i_1}{\text{sen } r_1} = \frac{\text{sen } 90^\circ}{\text{sen } L} = \frac{1}{\text{sen } L}$$

Imaginemos...

Que temos um meio com determinada densidade óptica, que pode ser uma solução qualquer e o ar, se se incidir uma radiação nesta superfície de separação, o raio refracta, porque a densidade óptica daquela superfície é menor. Isto é, o número de moléculas que existem por área é menor, o que vai fazer com que a radiação refracta, se desvie muito mais do que a radiação incidente.

- Se aumentarmos o ângulo de incidência, o raio que refracta vai aumentar com o componente.
- Se continuarmos, chega-se a um ponto que para chegar a uma determinada incidência, a refração se faz tangencialmente à superfície da solução.

Qualquer raio com o ângulo superior a este, (ver nota) deixa de se refractar para se reflectir totalmente. O ângulo é chamado de ângulo crítico ou ângulo de reflexão total. Logo, é o maior ângulo a que corresponde a uma refração “arrasante”.

É com base na formação deste ângulo, que a maioria do equipamento para determinar o índice de refração se baseia.

POR DEFINIÇÃO:

Índice de refração de 2 em relação a 1, admitindo que o meio de 2 é o que está a azul e o 1 é o que está a branco, é exactamente igual a n absoluto de 2 sobre n absoluto de 1.

Por definição, n absoluto de 2 é o termo do ângulo de incidência no meio 2 sobre o termo do ângulo de refração do vazio (meio 1).

- Se o ângulo de incidência passa de um meio opticamente menos denso para um meio opticamente mais denso, o ângulo de 90° vai dar origem ao ângulo crítico.

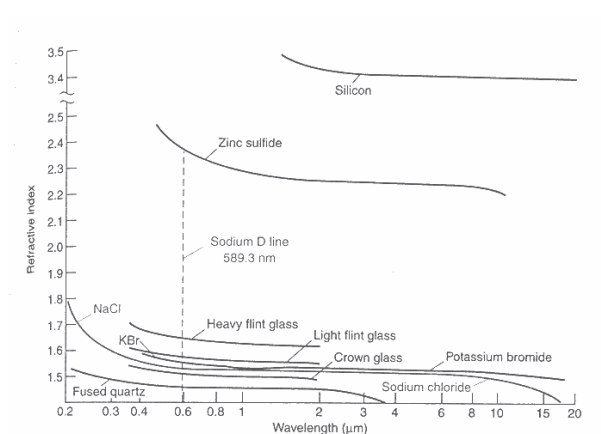
- Logo, o seno do ângulo de incidência de 90° corresponde ao seno do ângulo de reflexão, de refração (ângulo crítico).

Como o seno de 90° é igual a 1, através da medida do n , pode-se saber o valor de L (ângulo crítico ou limite).

Factores que afectam o índice de refração

1. Comprimento de onda
2. Temperatura
3. Pressão
4. Constante dialéctrica

1º- Comprimento de onda



- é uma representação para várias substâncias

$$c = \lambda \times f_{vacuo}$$

$$v_A = \lambda_A \times f$$

como

$$n_A = \frac{c}{v_A} \Rightarrow n_A = \frac{\lambda \times f_{vacuo}}{\lambda_A \times f} = \frac{\lambda}{\lambda_A}$$

N em função do comprimento de onda é semelhante para todas as substâncias. Naturalmente que esta radiação não se faz sentir para todas as gamas de λ .

Exemplo: ver o gráfico para o silicato e o cloreto de sódio.

2º- Temperatura

A temperatura tem acção directa sobre a densidade do meio, isto é, sobre o número de moléculas por volume. Daí que um aumento de temperatura provoque uma diminuição do número de moléculas por volume, e estas moléculas deixam de:

- “Interagir” com tanta intensidade do vector eléctrico da radiação
- Actuar menos em relação a outra situação cuja temperatura seja mais baixa.

Para a maioria dos líquidos transparentes e semitransparentes

A variação de n relativamente a T para diferentes valores de temperatura varia dentro destes limites:

$$-4 \times 10^{-4} / K < \frac{dn}{dT} < -6 \times 10^{-4} / K$$

Excepções: água e sulfureto de carbono

Nota: uma variação de -4×10^{-4} , relativamente ao aumento de 1 grau de temperatura, é uma coisa razoável.

Na prática, quando se determinava o n do refractómetro, fazíamos-lo com 4 casas decimais. Estas 4 casas já eram duvidosas, e havendo alteração na 4ª casa decimal, esta afectava a 3ª que é um algarismo quantificado em termos de diferenciação de índice de refração sobretudo para substâncias.

Então, significa que tudo o que fizemos na aula prática deveria ter sido feito a temperatura controlada. Efectivamente, o refractómetro tem possibilidade de controlar a temperatura, em que a água circula continuamente a uma temperatura fixada, que permite que o valor de n não seja alterado pelo valor de T .

Porque é que não o fizemos?

Porque a temperatura do laboratório é tão elevada e ainda por cima com uma densidade de população que lá estava, não se justificava por lá um “trambolho” para fazer passar um banho de água.

PARA SÓLIDOS

A variação de n relativamente a T é muito mais baixa.

$$-10^{-6} / K < \frac{dn}{dT} < -10^{-4} / K$$

A temperatura, para além de implicar uma variação sobre a densidade, também implica variação numa frequência vibracional das moléculas.

Temperatura influencia:

✓ densidade

✓ frequência vibracional

(quando T aumenta, as bandas de absorção de U.V. deslocam-se para $> \lambda$)

As moléculas vibram com determinada frequência o que faz com que a interacção entre as camadas exteriores com o vector eléctrico que normalmente interage com a matéria da radiação electromagnética, vá alterar.

Por essa razão, (alteração do valor de n , devido à temperatura) é que ao assinalar o valor de n determinado, devemos-lo fazer sempre, indicando dois factores fundamentais:

1. O comprimento de onda, refere-se à luz amarela do Na^+ .
2. Temperatura.

Por isso é habitual ver nos líquidos, ou nas fotografias, onde estão reunidas todas as características das substâncias, vemos desta forma:

n_D^{20}

20- 20 graus

D- risca

Só se pode comparar n de duas substâncias presentes, se tiverem a determinação a 20 graus em relação à risca D, da luz amarela do Na^+ .

Caso contrário, como na densidade, não se pode afirmar que através de n isto é A e aquilo é B.

3- Pressão

Pergunta: Se a temperatura faz alterar a densidade do meio, a frequência vibracional, também pode alterar o índice de refração?

Isto é, se se faz pressão sobre um líquido, há um empacotamento das moléculas, altera-se a densidade e consequentemente altera-se o valor de n .

Resposta: É verdade! Só que as variações de pressões de 1 atm produzem uma variação de n muito pequena.

– Aumento de pressão \Rightarrow aumento de densidade \Rightarrow variação de n

– $\Delta p = 1 \text{ atm} \Rightarrow \Delta n = 3 \times 10^{-5} / \text{atm}$

Então porquê dar importância ao -4×10^{-4} e não 10^{-5} ?

Porque para ter uma variação de 1 atm em P , é preciso sujeitar a substância a forças extremamente elevadas (o que não acontece, senão estaríamos todos “tolos da cabeça”).

4- Constante dielétrica

As moléculas quando estão em solução acabam por se polarizar, isto é, há uma distribuição das cargas positivas de um lado e das cargas negativas para outro.

Constante dielétrica



Variação eléctrica

Índice de refração



Variação óptica

$$n = \sqrt{\epsilon}$$

Em termos genéricos, as moléculas costumam formar dipolos e como estes têm um excesso de uma carga de um lado e do outro, consoante a sua direcção na solução, vão provocar interacções menores ou maiores “para o” vector eléctrico.

Ou seja, se a radiação atingir a zona da molécula onde há concentração das cargas negativas, a interacção será maior aí, do que se for a incidência na zona de cargas positivas.

Então significa que a constante dielétrica que mede a permissividade (ou polarizabilidade) da solução em termos eléctricos, também vai provocar uma variação óptica e segundo Einstein, a variação de n , em função da permissividade é: $n = \sqrt{\epsilon}$

Determinação do índice de refração: Refractómetros

Para saber qual a molécula mais polar, isto é, qual a mais hidrofílica, fazemo-lo através de n . Através das medidas de n , pode-se chegar à conclusão da polaridade do sistema.

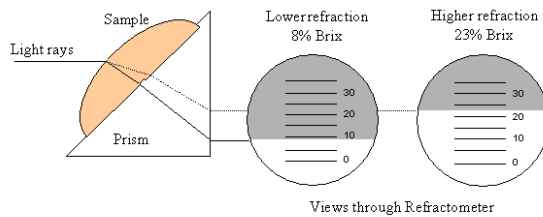
Ex: Solvente polar dissolve substância polar

Solvente apolar dissolve substâncias apolares

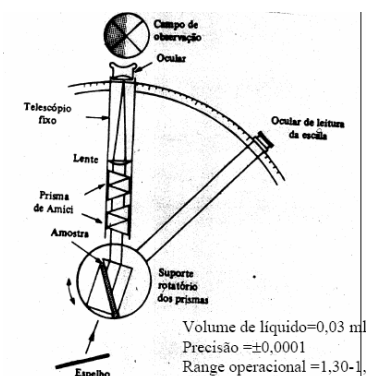
Como base daquilo que foi dado em relação ao ângulo crítico, sabe-se como funciona o refractômetro utilizado nas aulas práticas.

A radiação vem por reflexão, pode ir por:

- Espelho
- Fonte luminosa (lâmpada)



A radiação vai atingir o prisma sobre determinado ângulo. Como está a passar por um meio opticamente mais denso para um meio opticamente menos denso (solução colocada entre os dois prismas) e se esta incidência corresponder ao raio crítico, vai refractar-se tangencialmente à superfície da solução.



Resumindo...

A solução é colocada entre os dois prismas cujo contacto entre eles é muito justo. Logo a refração na zona α pode funcionar como incidência nesta zona.

E como um raio está a passar de um meio opticamente mais denso para um menos denso, o que vai refractar com o ângulo limite.

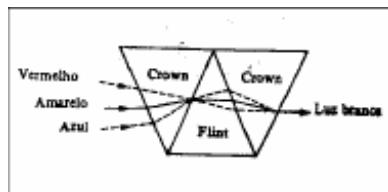
Conclusão:

- ✓ Todos os raios que são superiores ao ângulo limite, reflectem (por isso vemos claro, vemos a mesa, pela luz reflectida) – Raios amarelos
- ✓ Todos os raios que são inferiores ao ângulo limite, refractam (por isso vemos escuro) – Raios vermelhos

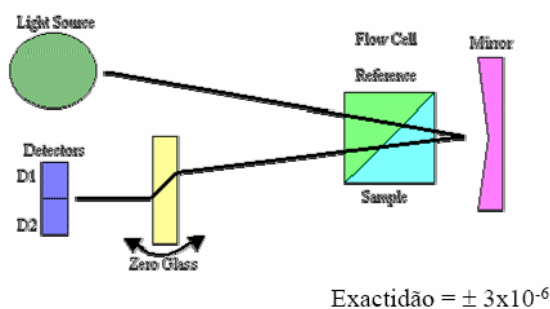
Logo, na prática, quando víamos o “envelope”, a zona clara correspondia aos ângulos refractados e a zona escura correspondia aos ângulos refractados e a risca preta era o ângulo limite (característico do par hidro/solução, sendo então característico para determinada substância).

Monocromador:

- Faz variar as incidências de forma a obter uma luz de um só comprimento de onda.
- Ou seja, compõe a luz que é dispersa por vários comprimentos de onda com a ajuda dos prismas com composição (de silicato e chumbo) diferentes. Estes prismas têm vidros de Crown e Flint e têm que estar dispostos assim:



Refractómetros diferencial

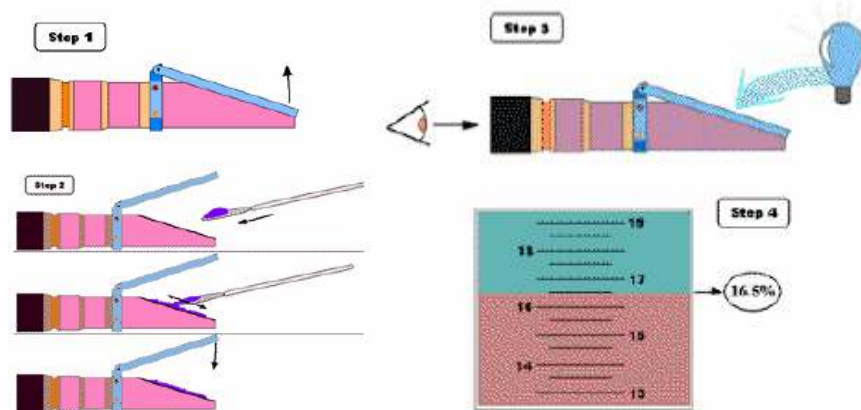


No caso de ter duas substâncias quimicamente muito semelhantes, cuja cada uma terá o seu índice de refração. Neste caso o refractômetro que usamos na aula, é incapaz de as distinguir. Por isso, usamos o refractómetro diferencial.

Tem uma chamada célula de referência, onde de um lado se coloca um solvente e do outro a solução.

Nota: quando se mistura o soluto com o solvente, a quantidade ou o tipo de soluto pode não ser suficiente para provocar uma variação de n tão significativa.

Então, utilizando o refractómetro diferencial, onde na mesma célula se coloca o solvente e a solução, pode-se de uma forma diferencial, determinar qual é o valor rigoroso de n relativamente ao soluto. Já que o valor de n que se determina habitualmente, é para uma determinada solução.



Refractómetro de mão (modelo Brix)

A aplicabilidade da refractometria é mais comum na área do petróleo. Quando há separação do petróleo, desde os vários componentes do crude até componentes do petróleo, é feita por destilação fraccionada (ou seja, os componentes vão saindo de acordo com as suas temperaturas de ebulição). O destilado destas temperaturas é analisado refractometricamente.

Refractometria: aplicações analíticas

Mas, a refractometria é fundamental na análise dos alimentos e da urina. A análise desta última é muitas vezes feita através de n nos laboratórios de análises clínicas.

- Determinação da % açúcar em soluções aquosas
- Salinidade (densidade da urina)
- Proteínas clínicas (concentração de proteínas)
- Determinação da % de etanol em soluções aquosas
- Processo de detecção quando acoplado a cromatógrafos e aparelhos de electroforese capilar
- Acompanhamento de destilações fraccionadas

Mais uma fabulosa historinha da prof:

Antigamente as leiteiras adulteravam o leite com urina, pois esta tem o valor de densidade muito parecido com o do leite, contrariamente ao do da água. E como não havia na altura a tecnologia que há hoje (refractómetro diferencial, neste caso), era impossível a detecção da fraude.

Refractometria: análises qualitativas

Muitas vezes, o valor de n não permite distinguir duas substâncias, ou porque são muito semelhantes, ou porque não há refractómetros diferenciais, é necessário refractómetro específica.

Refractómetro específica, permite a comparação de n da amostra com o n da substância conhecida e por controlo da temperatura e comprimento de onda, permite relacionar os índices de refacção (n) com:

- massa molar
- densidade

- Comparação da medida de n da amostra com n da substância conhecida
- Determinação dos valores de n e n em condições idênticas
- Controlar a temperatura e o comprimento de onda
- Se não for possível distinguir as duas substâncias através dos valores de índice de refração

• \Rightarrow compare-as através da refração molar

$$R = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \times \frac{M}{d}$$

- O valor de R determinado para a amostra é comparado com os valores estimados para substâncias conhecidas

Table 15-2. Increments of molar refraction for various organic components, assuming refractive index measurements are made using the sodium D lines

Component	Increment of R
C	2.418
H	1.100
C=C	1.733
C≡C	2.398
F	0.95
Cl	5.967
Br	8.865
I	13.900
O (hydroxyl)	1.525
O (ether)	1.643
O (carbonyl)	2.211
O (ester)	1.64
Aliphatic amines	
primary	2.322
secondary	2.502
tertiary	2.840
Aromatic amines	
primary	3.21
secondary	3.59
tertiary	4.36
Three-membered ring	0.71
Four-membered ring	0.48

- $R =$ (contribuição de duplas, triplas ligações, anéis) + (contribuição dos átomos)

Os valores de R determinados para uma amostra, podem ser comparados ou até estimados em função da forma estrutural da amostra.

O valor de R é resultado de:

- Ligações duplas
- Ligações triplas
- Anéis aromáticos que formam a solução
- Contribuição dos átomos

Nota: Se através de n não se consegue chegar à estrutura da substância, pode-se tentar “construir” com valores tabelados.

ex: Desconfiava-se que era cloreto de sódio. Sabe o incremento por uma tabela. Posteriormente, comparava-se este valor com aquele que nos deu experimentalmente, para se poder deduzir se era ou não NaCl.

Refracção específica

- **Índice de refração** corrigido em relação às diferenças de densidade de dois meios
- Representa uma medida das propriedades electrónicas das próprias moléculas e não do espaço vazio, incluindo o estado de agregação particular

$$R_D = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \times \frac{1}{d}$$

Independente:

Pressão

Temperatura

Estado de agregação

Outra vantagem da refração específica e que não depende da:

- Pressão
- Temperatura
- Estado de agregação molecular

Quando se tem mais do que uma mistura, será que o valor de n permite dizer que se tem um tanto de A e um tanto de B?

Permite! Mas se tiver a garantia que as duas substâncias não interagem quimicamente.

Se se tiver duas nuvens electrónicas, a variação da velocidade da luz, vai depender da interacção das nuvens electrónicas. Se as moléculas interagirem uma com a outra, vão criar outra nuvem electrónica que não tem nada a ver com as outras, provocando uma variação da velocidade da luz. Logo, o valor de n não é fiável.

Nesta situação, para ver se há ou não reacção química, mistura-se uma determinada quantidade de uma substância A com uma determinada quantidade de substância B e verifica-se se o índice de refração da mistura $n(A+B)$ é igual à soma dos índices de refração separados $n(A) + n(B)$.

Nota: Se se cometer erros humanos ou se se utilizar material pouco precisos, logo $n(A+B)$ será diferente de $n(A) + n(B)$, concluindo que houve reacção química.

MI. Para evitar isso ou “tirar teimas”, recorre-se à uma propriedade muito mais específica → valor R (leva em conta a densidade e a massa molar).

Nesta situação, se $n(A+B)$ for diferente de $n(A) + n(B)$ das soluções puras, (estamos na presença de uma reacção química)?

Historinha da professora 2:

Nos primeiros anos que a professora leccionava, os alunos efectuaram uma destilação fraccionada. Ou seja, o primeiro composto que saía era o mais volátil (menor temperatura de ebulição) e por aí fora.

Os alunos pegavam na curva de calibração que a professora tinha feito, e chegavam à conclusão que o destilado enriquecia no composto menos volátil, o que era impossível.

O que se passava era o seguinte, a professora baseava-se numa relação de 1mL para 9mL medidos numa proveta. Ou seja, quando ela mediu 1mL e 9mL em pipeta porque a experiência assim, dava certo, e juntou tudo numa proveta, o volume era inferior a 10mL, o que significa que havia contracção, que havia reacção química, ou seja, a relação era, para aí, um padrão de 1 para 8.

Logo, se a professora tivesse dado também atenção ao R e não só a n, ter-se-ia apercebido que havia algo de errado.

Refracção atómica, molar e dispersão específica

■ Refracção atómica

- $R_A = R_D \times \text{átomo grama}$

■ Refracção molar

- $R_M = R_D \times \text{molécula grama}$

■ Dispersão específica

$$D = R_{D_{\lambda 2}} - R_{D_{\lambda 1}}$$

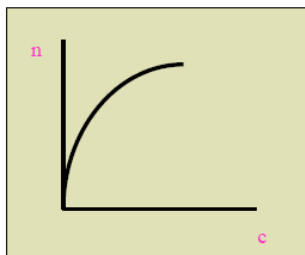
Através da refração específica, pode-se chegar à:

- Refracção atómica
- Refracção molar
- Dispersão específica, que é a refração específica que é determinada para um comprimento de onda e para outro comprimento de onda. Logo, determinando o valor para 2 comprimentos de onda, caracteriza-se muito mais a substância.

Refractometria: análises quantitativas

■ 1- Método da curva de calibração

- $n = f(C / \text{mol dm}^{-3})$
- $n = f(C / \%)$



A refracção é muito utilizada para análise de proteínas.

Quando fazemos um gráfico cujo n é em função da concentração de uma “matriz” proteica (macromoléculas), não temos linearidade da solução.

Para uma solução de moléculas pequenas, temos essa tal linearidade (ex. NaCl), mas para as macromoléculas não.

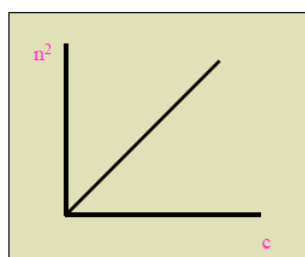
E porquê? Porque, o meio de dispersão dessas macromoléculas, têm uma densidade muito elevada e também contribui para uma variação da velocidade da luz.

■ 2- Análise de proteínas através do incremento refractivo específico (K')

$$K' = \frac{n - n_0}{c}$$

$C = \text{g/ml}$

Mas....



Pode-se aproveitar esta relação, torná-la analiticamente útil, fazendo n^2 em função de c .

Logo, fazendo uma curva padrão para soluções de proteínas padrão, pode-se calcular:

- Concentração de uma solução proteica
- Peso molecular da solução (calcula-se 1º o n , depois o RD, depois o RM e finalmente o M)
- RA/RD/RM

Ou seja, pode-se saber quais são os tipos de átomos da solução proteica

Nota: Antigamente, o benzeno era o solvente mais usado em cromatografias.

Actualmente, sabe-se que é um produto químico cancerígeno. Porém, é considerado, por tabelas, como um dos melhores solventes.

Polarização da luz

Polarimetria

Então...

Há dois tipos de ondas: umas longitudinais, porque a direcção de vibração ou plano de vibração coincide com a direcção de propagação; e outras transversais porque o plano de vibração é sempre perpendicular à direcção de propagação.

O som é um exemplo de ondas longitudinais. Por terem estas características é que conseguem contornar obstáculos, o que não se consegue com ondas transversais, como por exemplo as ondas luminosas. Contudo, no momento em que chocam com o objecto pode haver outro fenómeno: a difracção. Estas ondas transversais são as únicas que podem sofrer o fenómeno da polarização da luz.

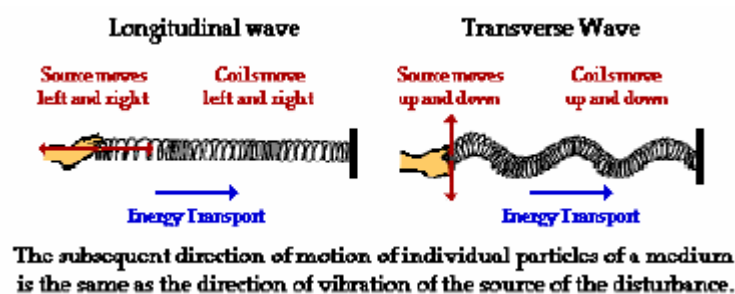
Polarização das ondas

Tipos de ondas

No movimento ondulatório:

- se as partículas do meio (caso das ondas mecânicas) vibram na direcção de propagação do movimento ondulatório, as ondas denominam-se longitudinais (caso do som)

- se as partículas do meio vibram em direcções perpendiculares à direcção de propagação, as ondas denominam-se transversais (caso de uma corda que vibra ao ser agitada num dos extremos).



O que é uma onda não polarizada?

Onda que possui mais de uma direcção de vibração para uma direcção de propagação

A onda possui várias direcções de vibração para apenas uma direcção de propagação.

Observe que todas as direcções de vibração são perpendiculares à direcção de propagação

Ou seja...

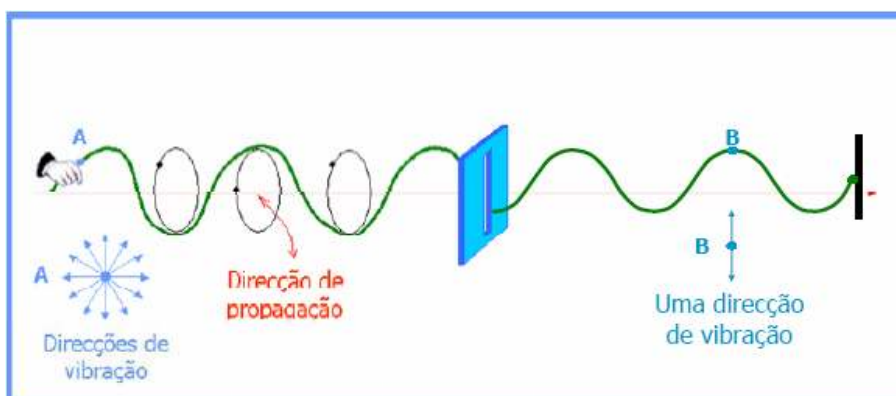
Uma onda que não está polarizada é aquela que vibra numa infinidade de planos, isto é, tem várias direcções de vibração e uma só direcção de propagação. E todas estas direcções de vibração são, por característica das próprias ondas, perpendiculares à direcção de propagação.

Por exemplo, pegando numa corda e a agitando, a corda vibra não só como na figura, mas também vibra por toda ela. São chamadas direcções de vibração da onda as que se propagam numa infinidade de planos.



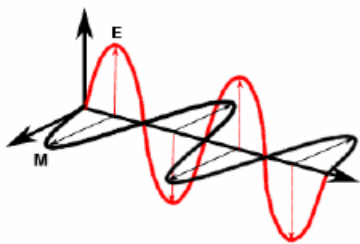
O que é polarizar uma onda?

Polarizar uma onda é obriga-la a vibrar numa só direcção de vibração, isto é, a onda vibra num só plano mesmo que ela anteriormente tenha vários planos de vibração. É fazer com que uma onda não polarizada (várias direcções de vibração) se transforme numa onda polarizada (uma direcção de vibração).



A polarização representada, exactamente porque a onda que é polarizada está inscrita num plano que é coincidente com dos planos de vibração da onda não polarizada, diz-se que é uma polarização linear, exactamente porque não há desvio de ângulos relativamente à onda original. No entanto há outros tipos de polarização.

As ondas luminosas



A luz é constituída por um vector eléctrico e um vector magnético. Ambos se propagam na mesma direcção, mas em planos perpendiculares entre si. O campo eléctrico é aquele que naturalmente interage com a matéria e é exactamente essa interacção que produz fenómenos como a reflexão, a refacção e a polarização.

- A luz é formada por ondas transversais (ondas luminosas)
- As ondas luminosas (ondas electromagnéticas) são devidas à variação dos vectores do campo eléctrico e magnético.
- As variações têm lugar em planos perpendiculares à direcção de propagação do raio luminoso.
- A luz natural, ou Luz não polarizada apresenta direcções de vibração em inúmeras direcções, mas todas elas perpendiculares à direcção de propagação do raio.

A light wave is known to vibrate in a multitude of directions ...



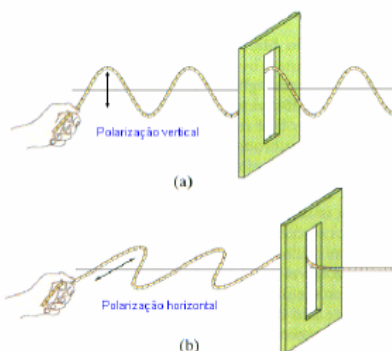
Como é que é possível polarizar e detectar a luz polarizada?

Como polarizar as ondas luminosas?

✓ A nossa visão não percebe as várias direcções de vibração de uma onda luminosa.

✓ Temos que conseguir uma onda, cujo vector campo eléctrico vibre num só plano (**plano de vibração**), perpendicular à direcção de propagação (o plano que contém essa direcção é o **plano de polarização**)

Luz polarizada: onda de luz que possui apenas uma direcção de vibração para uma direcção de propagação



- Vibração vertical e direcção de propagação perpendicular à vibração
- Vibração horizontal e direcção de propagação perpendicular à vibração

Os nossos olhos naturalmente não conseguem detectar todas as direcções de vibração. Se nós vemos a luz, ou um conjunto de radiações e que se propagam naturalmente a uma determinada velocidade, a luz vai actuar sobre determinados polarizadores ópticos que temos que nos dão a sensação de visão.

Portanto, para poder saber se a luz é ou não

polarizada, têm de se utilizar dispositivos especiais, nomeadamente polarizadores e analisadores. As ondas transversais polarizadas estão representadas nesta figura.

No caso da luz, se houver uma fonte de radiação não polarizada, imagine-se uma fonte de radiação policromática, a luz natural que é constituída por várias cores, com vários comprimentos de onda, ao atravessar uma determinada substância, que neste caso pode ser meramente uma lamina

de um determinado material (cristal de espato da Islândia), ela vai naturalmente ser polarizada. Metade destas radiações, ou todas estas são eliminadas, excepto aquela que vibra perpendicularmente à direcção de propagação. Esta só é detectável colocando uma segunda lâmina de espato da Islândia na mesma direcção, isto é, paralelamente à primeira.

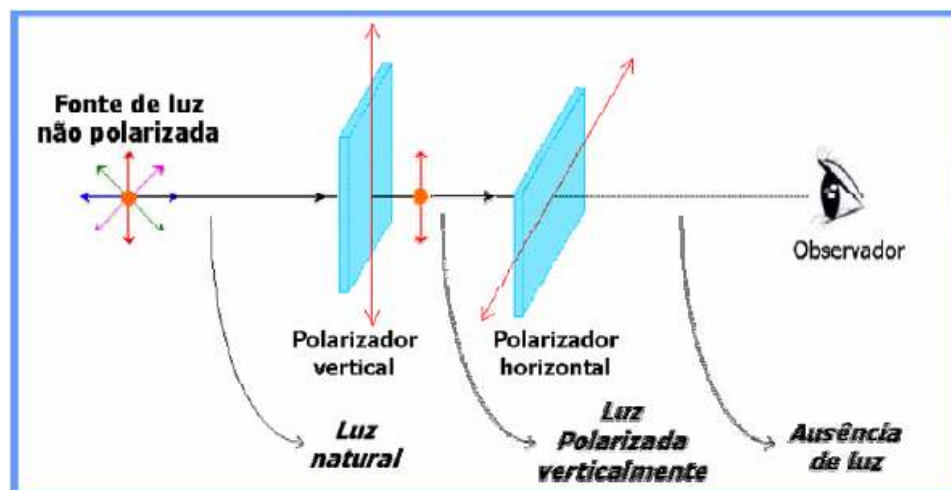
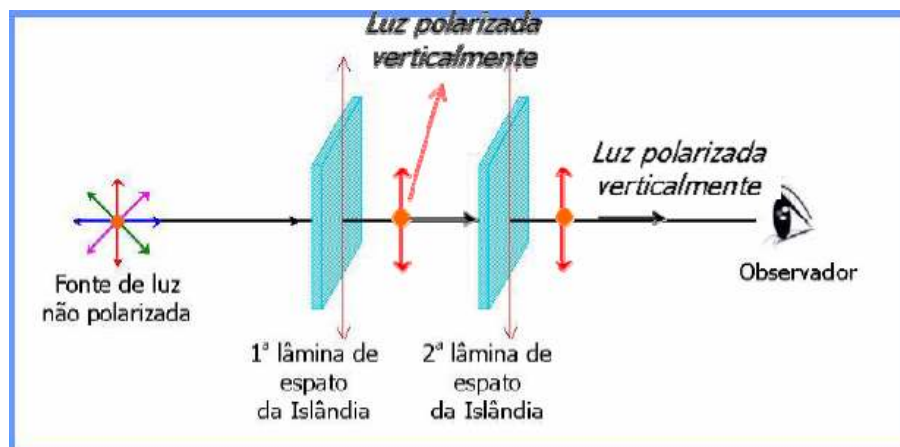
Porquê colocar paralelamente?

Em qualquer cristal, a sua rede cristalina é orientada de determinada maneira, e há um chamado eixo cristalorado. Se o eixo cristalorado da primeira lâmina estiver paralelo ao eixo cristalorado da segunda lâmina, a luz passa (é polarizada) e é vista do outro lado da lâmina.

Rodando segunda lâmina, isto é, colocando o eixo cristalorado numa posição diferente daquela a que corresponde à primeira lâmina, dá-se conta que há ausência de luz. Essa ausência total de luz acontece quando este eixo faz um ângulo de 90° com este. Todos os ângulos diferentes de 90° vão deixar passar um pouco desta luz, mas com intensidades diferentes. A intensidade da luz polarizada vai variar não só com o tipo de material que provoca a polarização, isto é, com as características físicas desse material.

Através disto podemos calcular qual é o ângulo em que a luz é polarizada.

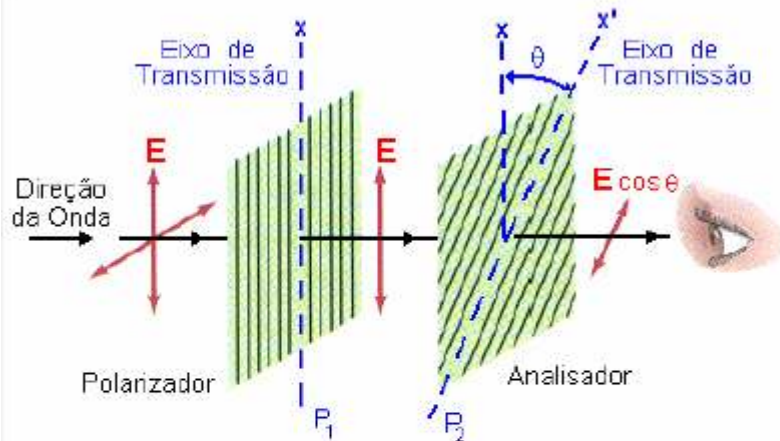
Polarização da Luz



A colocação de dois polarizadores com direcções de vibração perpendiculares entre si, impede a passagem da luz.

O processo da polarização pode ser um processo utilizado para graduar a intensidade da luz, que é muito utilizado em óptica. *

Polarizador/Analizador



$$I = I_0 \cos^2 \theta$$

Lei de Malus

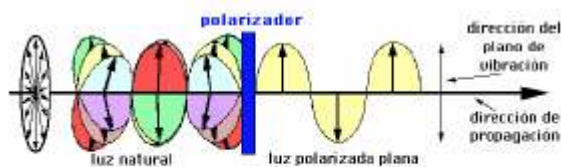
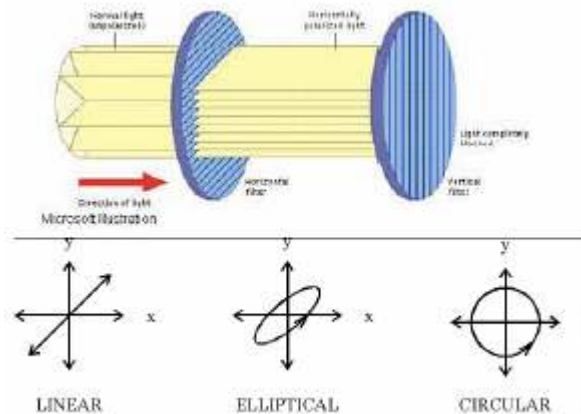
I - intensidade de entrada da onda no analisador

I_θ - intensidade de saída da onda no analisador

* Os óculos polaróide, têm função de regular a intensidade da luz natural de forma a não atingir com tanta energia, fazer com que algumas das radiações que são energeticamente mais activas que outras e portanto mais danosas para o nosso olho, sejam eliminadas.

Tipos de polarização da luz

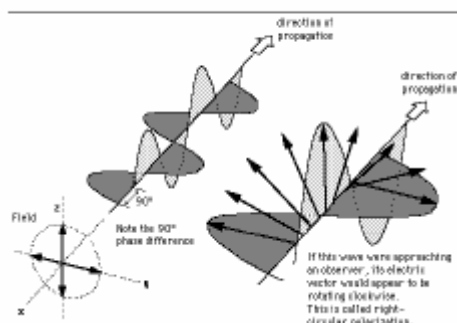
Não podemos ficar com a ideia que a luz só pode ser polarizada linearmente, porque a luz pode ser polarizada linearmente, circularmente e elipticamente.



Polarização linear

Aqui está representada esquematicamente como é obtida uma luz polarizada linearmente. A luz natural é constituída por vários os feixes de várias cores e cada uma delas tem uma direcção de vibração diferente. As velocidades também são diferentes e quando atravessam um determinado polarizador, só uma das propagações é que prevalece, vibra e se propaga numa direcção.

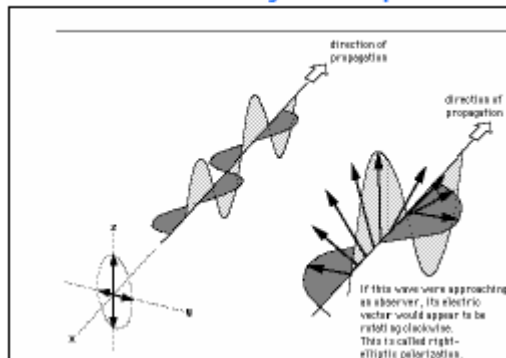
Polarização circular



Polarização circular pode ser utilizada (como foi visto nas aulas práticas) para quantificar a concentração de uma substância.

Neste caso, chega a haver rotação da radiação.

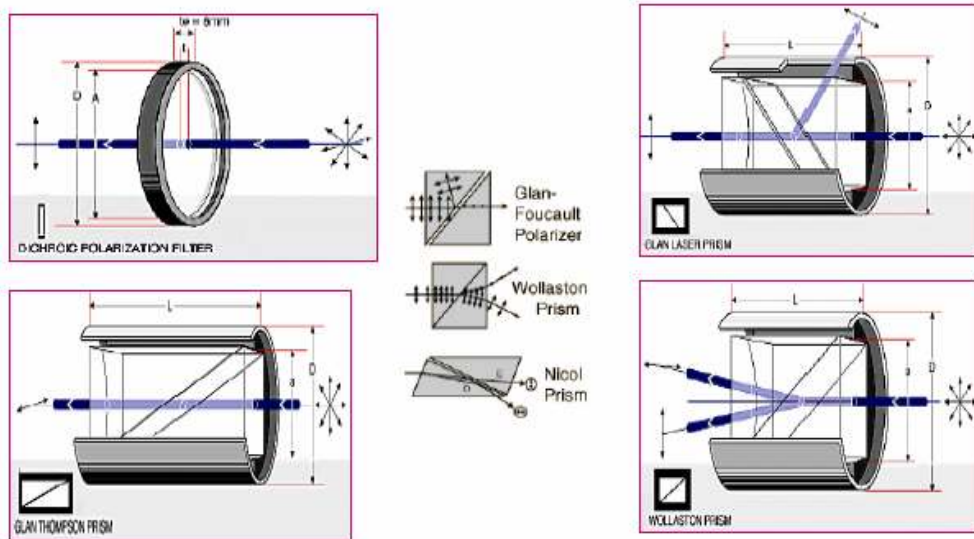
Polarização elíptica



A polarização elíptica, que no fundo é o somatório das duas polarizações anteriores, pode servir para determinar estruturas moleculares com muito maior precisão do que, por hipótese, uma absorção simples ou uma emissão de luz simples que é utilizado em fenômenos de espectroscopia do ultravioleta ou do visível ou espectroscopia de emissão fluorescente.

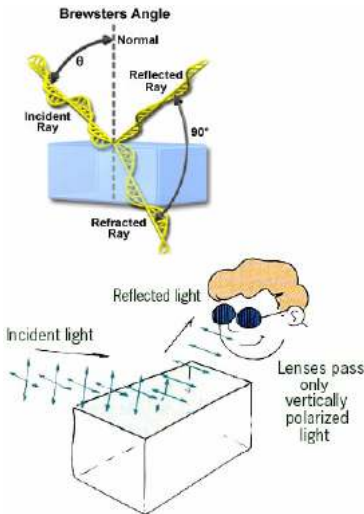
Além de haver a rotação, umas das radiações é mais absorvida que outra, dando como resultado uma projecção simétrica elíptica.

Exemplos de Polarizadores



Métodos para obter luz polarizada linearmente

Polarização por Reflexão e Refracção

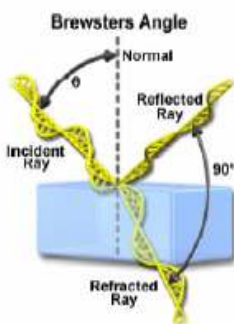


A luz incidente numa superfície plana e polida sofrerá em parte reflexão, originando um raio polarizado perpendicularmente ao plano de incidência, enquanto que a porção refractada será polarizada paralelamente ao plano de incidência.

Uma radiação incide num determinado meio óptico. Acontece sempre reflexão e um fenómeno de refacção. Há uma radiação que se reflecte com um ângulo exactamente igual ao ângulo de incidência, embora a direcção de reflexão seja perpendicular à direcção de incidência e um ângulo que se refracta e muda de direcção consoante o índice de refacção da substância,

portanto ele é desviado mais ou menos do ângulo normal de acordo com o índice de refacção da substância. Quando isto acontece, dá-se simultaneamente um fenómeno de polarização.

Polarização por reflexão e refacção: Ângulo de Brewster



O grau de polarização será função de:

- qualidade e índice de refacção da superfície reflectora

- do ângulo de incidência do feixe de luz que, segundo Brewster, atingirá a máxima polarização quando os raios incidentes e refractados forem complementares ($\sin r = \cos i$)

Nestas condições Sir David Brewster provou experimentalmente que, o ângulo de incidência corresponde ao ângulo de polarização quando o raio reflectido e o raio refractado são perpendiculares

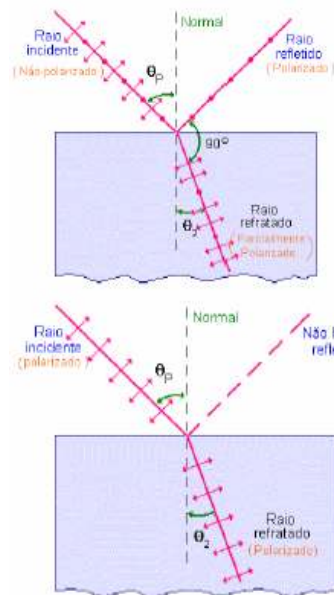
A onda extingue-se

$$\theta_{\text{reflexão}} + \theta_{\text{transmissão}} = 90^\circ$$

Pode haver polarização por reflexão e polarização por refacção. A intensidade da radiação polarizada depende não só da intensidade da luz mas também do \cos^2 do ângulo de incidência, então podemos regular essa intensidade e polarizar totalmente a radiação se conseguir uma incidência, de tal forma que os raios sejam complementares (ver figura), isto é, formem um ângulo de 90° . Quando a soma

do ângulo de reflexão com o ângulo de refração for igual a 90° , há a extinção total de luz reflectida. Este ângulo é, segundo Brewster, o ângulo de polarização e ele indica qual é a máxima polarização que pode existir.

Como é que se relaciona o ângulo de polarização com o índice de refração?



$$\theta_r + \theta_t = 90^\circ$$

$$\theta_p + \theta_2 = 90^\circ$$

$$n_1 \sin \theta_p = n_2 \sin \theta_2$$

$$n_1 \sin \theta_p = n_2 \sin (90 - \theta_p)$$

$$n_1 \sin \theta_p = n_2 \cos \theta_p$$

$$\frac{\sin \theta_p}{\cos \theta_p} = \frac{n_2}{n_1} = \tan \theta_p$$

Não havendo possibilidade de medir o ângulo, é necessário medir por via de uma outra propriedade que é o índice de refração. E então, sabendo que a extinção total se dá quando a soma do ângulo de reflexão mais o ângulo transmitido (que no fundo é o refractado) é de 90° . Como sabemos que o ângulo de incidência mais este também tem de ser igual a 90° , podemos pelas leis de refração dizer que o índice de refração do meio 1 vezes um seno do ângulo de incidência nesse meio é igual ao índice de refração do meio 2 vezes o seno do ângulo de refração no meio 2. chega-se a uma relação que diz que ângulo de polarização; a tangente desse ângulo de polarização, onde há polarização máxima, tem de ser exactamente igual à relação entre os índices de refração dos dois meios, onde se dá o fenómeno óptico, ou seja, tem de ser igual à relação entre o seno do ângulo de incidência e o co-seno do ângulo de incidência.

Mas não existe só polarização por reflexão, existe também por absorção e por absorção selectiva.

Cristais Uniaxiais/Birrefringência

Se num cristal incidir uma radiação, há duplicação dos raios (ordinário e extraordinário). Se se rodar o cristal e se se projectar geometricamente o que acontece ao raio ordinário, pode-se verificar que a velocidade é a mesma. Com o raio extraordinário não acontece o mesmo. As ondas vibram perpendicularmente mas têm a mesma direcção de propagação. As suas velocidades são diferentes. Se ambas tivessem a mesma velocidade haveria apenas um raio.

A projecção geométrica do raio ordinário é um círculo porque a velocidade do raio é constante, independente da posição do cristal. No caso do raio extraordinário, ao rodar o cristal, de acordo com a sua posição, há variação da velocidade de propagação. Logo, a sua projecção geométrica é uma elipse.

Os materiais que provocam esta reacção nos raios são materiais birrefringentes.



Materiais cristalinos com diferentes índices de refração associados a direcções cristalográficas

BIRREFRINGÊNCIA – Medida da diferença dos índices de refração extraordinário e ordinário ($n_e - n_o$), ou seja, têm índices de refração diferentes consoante a posição do cristal.

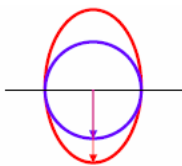
Surge da desordenação do cristal, mas basta uma pequena diferença do raio extraordinário e ordinário para que surja um desfasamento ou ângulo de rotação (α).

Birrefringência = ($n_e - n_o$)

= (índice de refração do raio extraordinário) – (índice de refração do raio ordinário)

= (velocidade de prop. do raio extr.) – (velocidade de prop. do raio ord.)

A birrefringência pode ser:

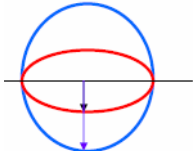


Birrefringência (-)

$n_e < n_o$ Ex: calcite

NEGATIVA:

A uma direcção perpendicular ao plano de propagação, tem-se um raio extraordinário com velocidade superior à do raio ordinário.



Birrefringência (+)

$n_e > n_o$ Ex: quartz

POSITIVA:

Para a mesma incidência a velocidade do raio extraordinário é inferior à do ordinário.

Para que são usados os materiais birrefringentes?

Para produzir prismas polarizadores e placas retardadoras.

Índice de refração ordinário e índice de refração extraordinário

Índice de refração ordinário

$$n_o = \frac{c}{v_o} = \frac{\text{sen } i}{\text{sen } r_o}$$

Índice de refração extraordinário

$$n_e = \frac{c}{v_e} = \frac{\text{sen } i}{\text{sen } r_e}$$

*

A velocidade do raio extraordinário é máxima quando a direcção é perpendicular à direcção do eixo óptico.

Alguns materiais birrefringentes:

Cristal	n_o	n_e
Turmalina	1,669	1,638
Calcite	1,6584	1,4864
Quartzo	1,5443	1,5534
Na NO ₃	1,5854	1,3369
Gelo	1,309	1,313
Rutilo (TiO ₂)	2,616	2,903

? É preciso haver uma diferença muito grande de índices para haver dupla refração?

Não!!!

No entanto, há maior refração ou birrefringência se houver maior diferença de índices.

* Ve é a velocidade de propagação máxima do raio extraordinário numa direcção perpendicular à direcção do eixo.

Exemplo:

Cálculo do ângulo limite para a incidência calcite / bálsamo do Canadá

$$n_o = 1,66$$

$$n_e = 1,49$$

$$N_{\text{balsamo}} = 1,55$$

$$n_o = \frac{\text{sen } i_{ar}}{\text{sen } r_o} \quad \text{e} \quad n_e = \frac{\text{sen } i_{ar}}{\text{sen } r_e}$$

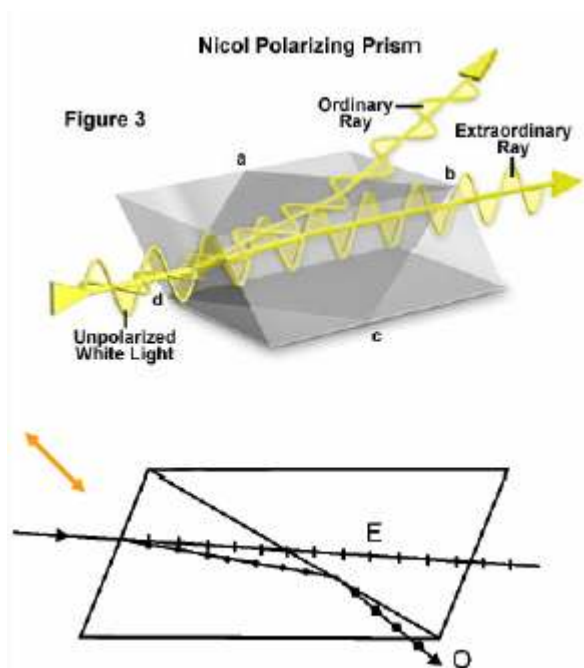
$$n_o > n_e \Rightarrow \text{sen } r_e > \text{sen } r_o$$

$$r_e > r_o$$

$$\frac{n_{\text{calcite}}}{n_{\text{balsamo}}} = \frac{n_{\text{calcite}}}{n_{\text{balsamo}}} = \frac{\text{sen } 90}{\text{sen } L} = \frac{1}{\text{sen } L}$$

$$\text{sen } L = \frac{n_{\text{balsamo}}}{n_{\text{calcite}}} = \frac{1,55}{1,66} = 0,93 \Rightarrow L = 69^\circ$$

Prisma de Nicol



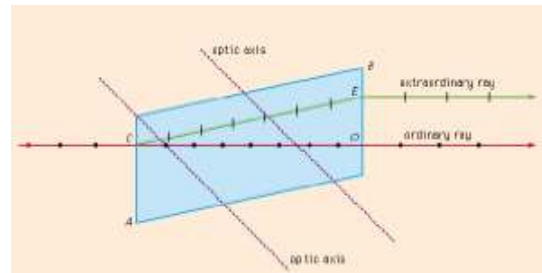
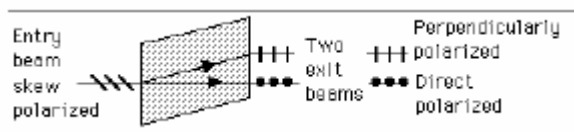
- Cristal que se encontra dentro do polarizador.
- Utilizado para polarizar a luz.

Polarização por birrefringência

Num material anisotrópico a velocidade da luz depende da sua direcção de propagação através do material.

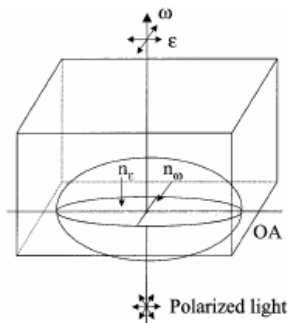
Para polarizar a luz linearmente, utilizam-se dois cristais de calcite colocados numa determinada direcção e unidos. Da refração obtém-se um ângulo.

Quando um raio de luz incide sobre este tipo de material há polarização por dupla refração. Formam-se 2 raios (RO) e (RE). Os raios estão polarizados em direcções perpendiculares e deslocam-se com velocidades diferentes.



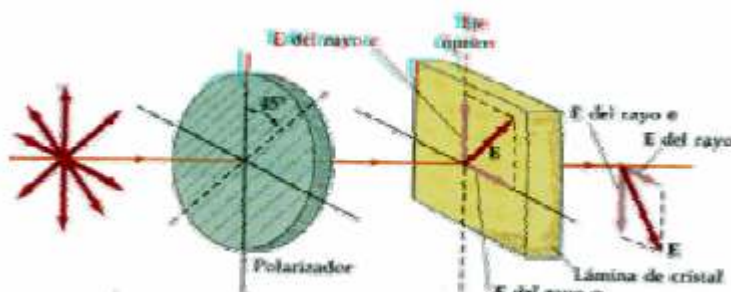
A incidência é perpendicular à superfície e ao eixo óptico.

O número de ondas contidos na placa é diferente porque os comprimentos das onda também são diferentes. Os raios emergem com uma diferença de fases que depende da espessura da placa e do comprimento de onda da luz.



A birrefringência atinge o valor máximo.

Os dois raios têm a mesma direcção mas velocidades diferentes.

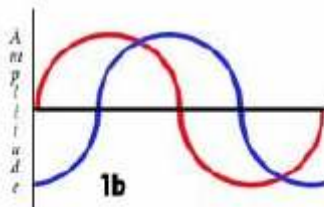
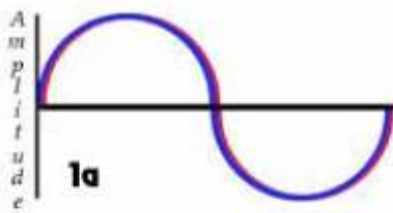


Considere um feixe de luz polarizado linearmente que incide numa lâmina de um cristal birrefringente, cortado paralelamente ao eixo óptico.

Considere que o raio de luz incidente faz um ângulo θ relativamente à direcção do eixo óptico.

Dependendo de θ , da espessura da lâmina e da birrefringência da lâmina, os dois raios (RE) e (RO) emergirão do cristal com uma diferença de fases igual a δ .

Significa que, Ro e Re partem em fase e têm amplitudes iguais (1a) mas emergem com uma diferença de fases (1b).



A diferença de fases expressa em radianos será

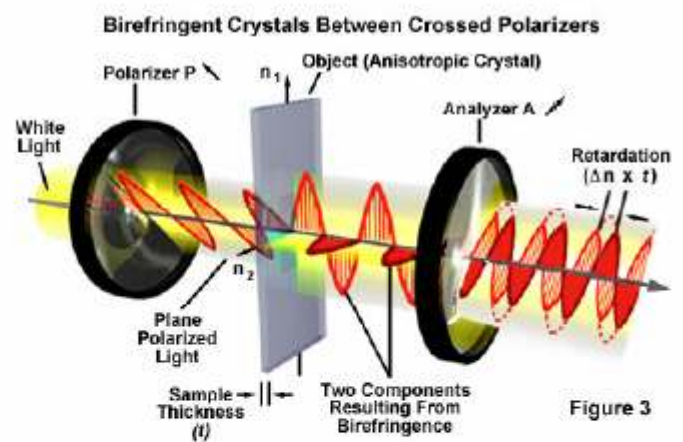
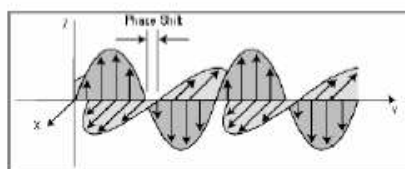
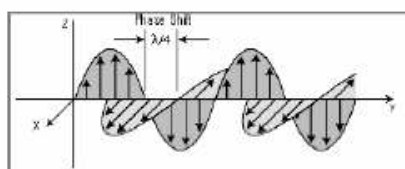
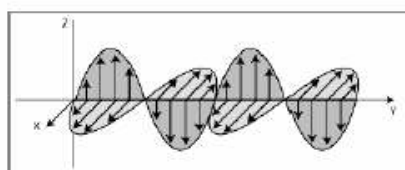
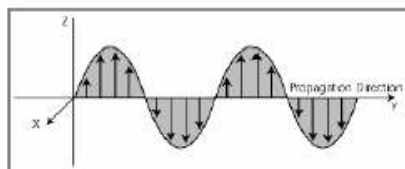
$$\delta = \frac{2\pi d}{\lambda} (n_E - n_o)$$

$(n_e - n_o) = \Delta n \Rightarrow$ birrefringência

$\delta \Rightarrow$ retardância

A actividade óptica está relacionada com as características da substância.

Como medir a retardação de um raio relativamente a outro?



$$\Delta n \times d$$

Δn – birrefringência

d – espessura do cristal

Retardadores ópticos, para quê?

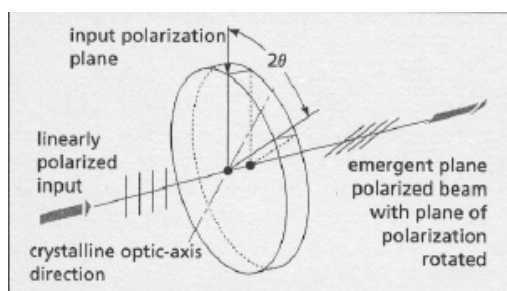
O raio ordinário e o extraordinário encontram-se sobre planos perpendiculares.

Se a distância entre as ondas é muito elevada acaba por haver um desfasamento e a onda final corresponde ao somatório das outras duas.

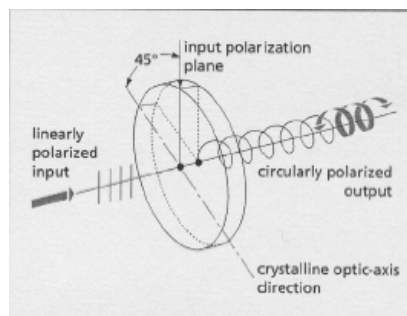
Há interferência entre as ondas por elas interagirem uma com a outra. Ao haver um somatório de amplitudes e ângulos, nota-se uma diferença de fases.

O desfasamento, que dá origem à rotação óptica, pode ser natural da substância e pode ocorrer tanto em substâncias sólidas (ex: quartzo) como líquidas – SUBSTÂNCIAS COM ACTIVIDADE ÓPTICA.

De uma forma genérica, com um ângulo de 2θ pode-se deslocar meia onda ou um quarto de onda.



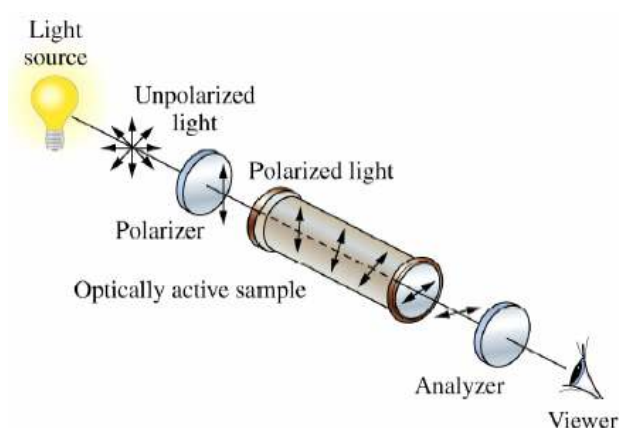
Lâmina de retardação de meia onda



Lâmina de retardação de um quarto de onda

As substâncias com capacidade de retardarem umas ondas relativamente à outra são consideradas substâncias opticamente activas por possuírem poder rotatório. Este poder rotatório é tanto melhor quanto maior for a sua concentração. Isto significa que a polarização por refacção que origina retardamento e consequentemente retardação óptica pode ser usado em termos analíticos para caracterização de substâncias.

Polarização rotatória

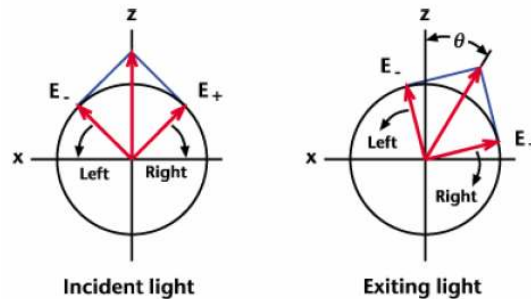


A luz não polarizada atravessa um polarizador. Ao aumentar a espessura do cristal, aumenta o tempo de desfasamento. A luz fica polarizada e quando atravessa a substância com actividade óptica, uma radiação retarda a outra de forma a que, quando sai, já não o faz no mesmo plano de vibração. Então, a substância roda o plano de vibração da luz polarizada e provoca rotação óptica

Substâncias deste tipo são opticamente activas e a forma de a exprimir faz-se em função da medida do desfasamento das duas componentes.

Rotação óptica: dupla refração circular

As substâncias opticamente activas são constituídas por moléculas. Umas têm a capacidade de rodar o plano de rotação para a direita e outras para a esquerda, ou seja, umas são dextrógiras e outras são levógiras, respectivamente. Então, a partir de uma substância opticamente activa, forma-se uma componente dextrógira e uma levógira



Quando as duas componentes “saem”, vão interferir e o resultado dos vectores eléctricos origina uma rotação para a esquerda ou para a direita.

Direita – se a componente dextrógira se sobrepõe à levógira.

Esquerda – se a componente levógira se sobrepõe à dextrógira.

Como exprimir o grau de rotação óptica em função do desfasamento das componentes levógira e dextrógira?

$$\alpha = \frac{\pi d}{\lambda} (n_l - n_d) \quad (n_l - n_d) \text{- birrefringência circular}$$

?

E é preciso haver uma diferença muito grande entre índice de refração, raio ordinário e raio extraordinário, componente levógira e dextrógira, para haver um desvio grande de ângulo? Não!!!!!!!

Exemplo:

Grau de rotação óptica /desfasamento

Uma solução de glucose a 3,45%, apresenta, a 18°C, uma rotação $\alpha = 99,8^\circ$, para a radiação de 5000 Å. Sabendo que o trajecto óptico era igual a 10 cm, calcular a birrefringência circular.

$$(n_d - n_l) = \frac{99,8 \times 5000 \times 10^{-8} \text{ cm}}{180 \times 10 \text{ cm}} = 2,77 \times 10^{-6}$$

Basta uma pequena diferença entre a velocidade de propagação entre o raio ordinário e o raio extraordinário para se obter uma rotação ou desfasamento.

Isomeria óptica: Quem a comprovou?

Jean Baptiste Biot (1774-1862), de forma basicamente empírica.

O ângulo traduz-se em função do comprimento de onda, da distância e da birrefringência, ou seja, a diferença entre n_l e n_d .

Medir n_l e n_d , ao contrário das outras grandezas envolvidas, é complicado. É necessário diferenciar as duas componentes.

Nas experiências que fez, Biot quantificou a rotação conseguida devido à dupla refração, e relacionou-a com algumas características, nomeadamente a concentração para poder avaliar este parâmetro nas soluções.

Admitiu então:

$$n_d \neq n_l$$

$$\begin{array}{lll} \text{Rotação +} & \longrightarrow & n_d > n_l \Rightarrow V_d < V_l \quad (\text{Dextrógiro, D}) \\ \text{Rotação -} & \longrightarrow & n_d < n_l \Rightarrow V_d > V_l \quad (\text{Levógiro, L}) \end{array}$$

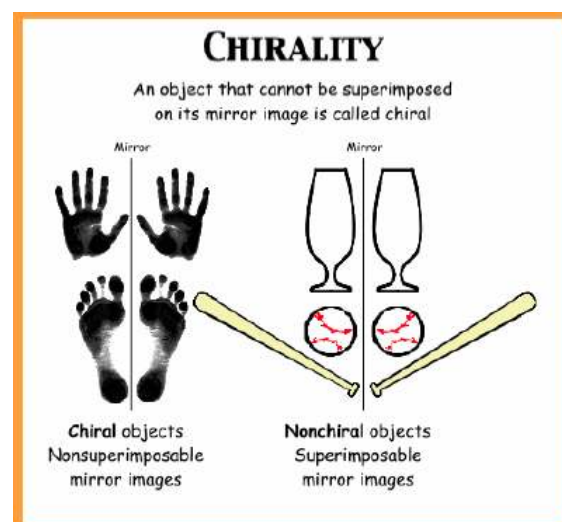
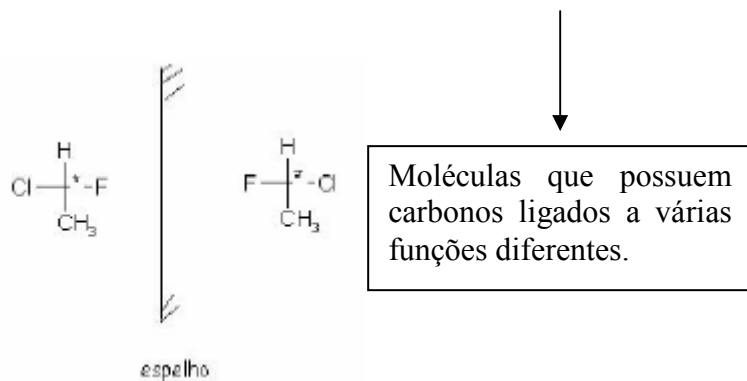
Esta característica é utilizada para identificar

Isómeros ópticos = Enantiómeros

Importância do estudo desta característica nas substâncias...

- Pode-se caracterizar a substância;
- Isómeros ópticos têm actividades biológicas diferentes. Por exemplo, a efedrina(?) na forma D não tem efeitos negativos, contudo, na forma L é perigosa. O clorofenicol(?), só numa das formas tem actividade farmacológica.

Actividade óptica/ Compostos Quirais



Se a molécula possuir um carbono deste tipo apresenta isomeria óptica. Os isómeros ópticos, por analogia, podem ser comparáveis. Quimicamente são iguais, mas farmacologicamente podem não ser.

Todos os testes químicos que se façam indicarão as mesmas características, apenas a actividade óptica os distingue.

São exemplos de substâncias que têm carbonos quirais:

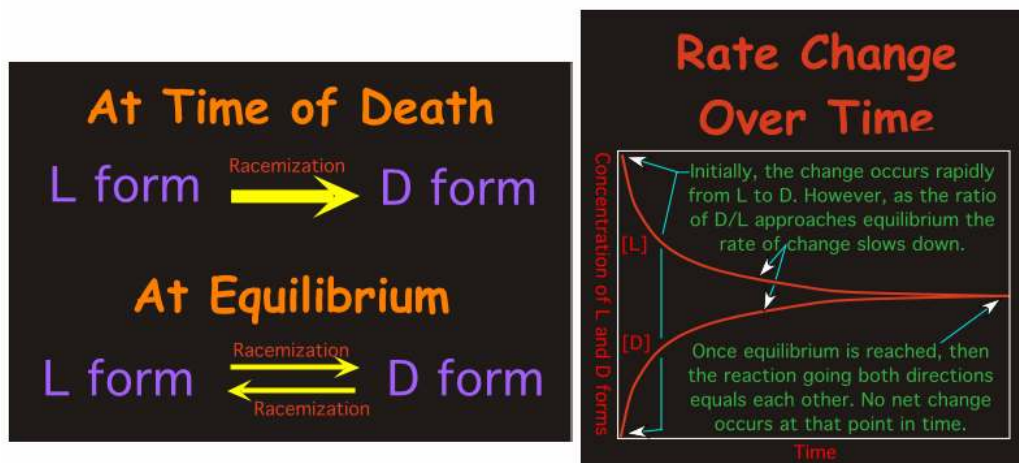
- carbohidratos (mono, di e polissacarídeos)
- vitamina E (α - tocoferóis)
- Talidomida
- Aminoácidos,
- etc, etc

Actividade óptica/ Racemização

As moléculas que têm isomeria óptica originam radiação ordinária e extraordinária (radiação L ou D) mas vão ao mesmo tempo transformando o enantiómero positivo no negativo. Ao fim de algum tempo, há um equilíbrio. Se o enantiómero positivo roda para a direita e o negativo para a esquerda, no final, a rotação óptica da substância deve ser aquela que corresponder ao mais potente. Se D tiver actividade óptica intrínseca maior que L, a rotação óptica será positiva e vice-versa.

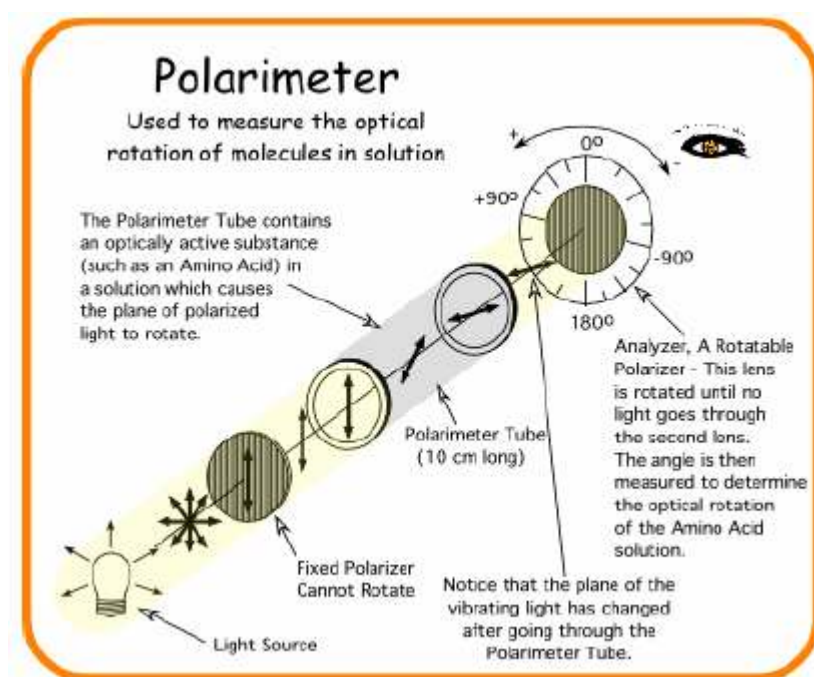
Quando se atinge o equilíbrio existem nas duas formas um racémico que dita a isomeria final da substância. A actividade óptica pode ou a polarimetria, pode servir para avaliar a velocidade de reacções químicas entre substâncias com actividade óptica.*

* Nas aulas laboratoriais, na experiência em que se usava a glucose, catalisava-se antes de aferir. Isto, para que a α - glucose se transformasse mais rapidamente em β - glucose e se obtivesse um valor de ângulo de rotação (α) correcto.
 $\alpha = +$
 $\beta = -$



Medida da actividade óptica

Funcionamento do polarímetro



O desfaseamento é quantificado através do ângulo de rotação. Este ângulo de rotação está relacionado com o comprimento de onda ou percurso óptico da onda e o poder rotatório específico da substância.

Tem-se, então, o valor do ângulo de rotação em condições específicas (valor rotatório específico), para um comprimento de onda fixo, para uma determinada temperatura e para a concentração de 1g/100ml. Isto permite distinguir as substâncias, visto este valor ser específico.

$$[\alpha]_{\lambda}^T = \frac{100\alpha}{c \times l}$$

$[\alpha]$ - rotação específica

α - ângulo de rotação

c - concentração expressa em g de amostra/100ml da solução

l - comprimento do tubo polarimétrico

Rotação Molar

$$[\phi]_{\lambda}^T = [\alpha]_{\lambda}^T \times M$$

Determinação da pureza óptica

A partir dos valores obtidos com o polarímetro, pode-se verificar qual o grau de pureza da substância.

- 1• Pureza óptica = excesso de enantiómero (%)
- 2• Pureza óptica = % enantiómero em excesso = % enantiómero 1 - % enantiómero 2
- 3• Pureza óptica = 100 $[\alpha]$ mistura / $[\alpha]$ amostra pura

Variáveis que afectam a rotação óptica

Só em condições padronizadas se podem comparar substâncias opticamente activas. Isto significa que há factores que alteram a sua actividade óptica.

1- Comprimento de onda

O poder rotatório específico varia com o comprimento de onda de acordo com a função

$$[\alpha] = \frac{K_1}{\lambda^2 - \lambda_1^2} + \frac{K_2}{\lambda^2 - \lambda_2^2} + \frac{K_3}{\lambda^2 - \lambda_3^2}$$

Sendo:

K_1 ; K_2 ; K_3 – constantes avaliadas experimentalmente

λ - Comprimento de onda da medida

λ_1 ; λ_2 – constantes aproximadamente identificadas com os comprimentos de onda máximos de absorção

Para dois λ diferentes podem-se distinguir duas substâncias. Calcula-se o poder rotatório específico para dois λ . α está relacionado com λ^2 , as duas substâncias não polarizam da mesma forma, e obtém-se um valor de dispersão óptica.

Para regiões bastante afastadas das bandas de absorção

$$[\alpha] = \frac{K}{\lambda^2 - \lambda_0^2}$$

λ_0 - constante correspondente ao comprimento de onda da banda de absorção opticamente activa mais próxima

Dispersão óptica rotatória = α versus λ

2-Temperatura

Um aumento da temperatura promove dilatação do tubo e diminui densidade da substância, logo a posição e quantidade das partículas. Também altera o poder rotatório das próprias moléculas devido a associações ou dissociações, aumento da mobilidade dos átomos.

De forma genérica, o poder rotatório específico relacionado com a temperatura, pode ser traduzido por esta expressão:

$$[\alpha]_{\lambda}^T = [\alpha]_{\lambda}^0 + nt$$

n

- coeficiente de temperatura

- grau ou quantidade que é necessário para que 1°C faça com que o poder rotatório específico aumente um valor.

3- Concentração

Geralmente o poder rotatório varia linearmente com a concentração mas de uma forma pouco significativa. No entanto, essa variação pode não ser linear.

A variação pode ser positiva ou negativa.

4- Solvente

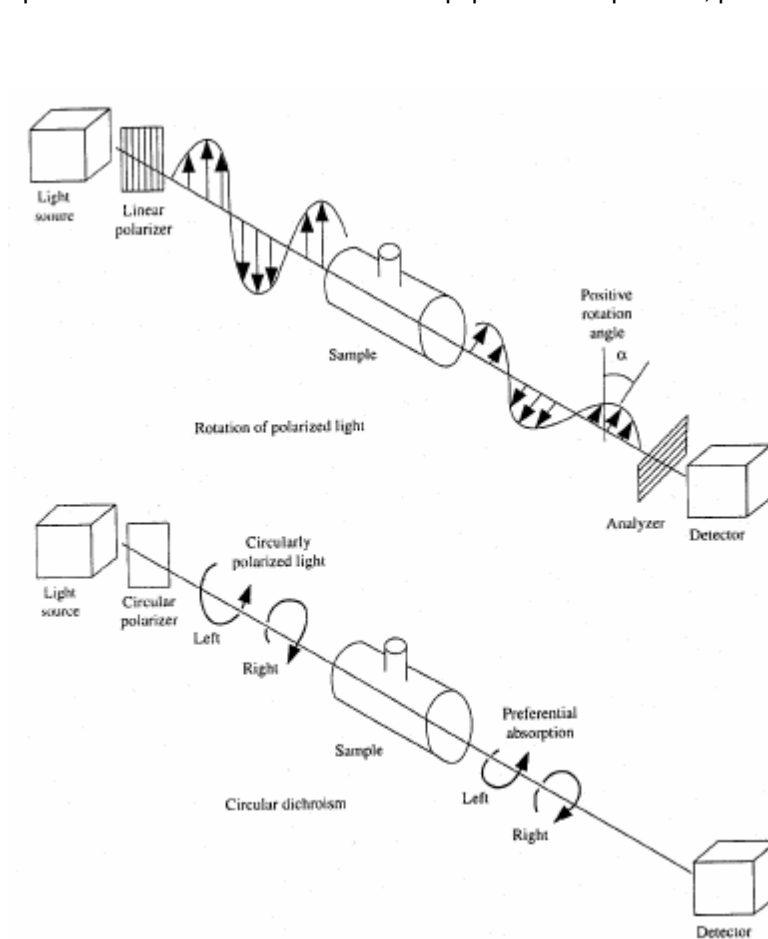
Solventes apolares não promovem agitação das partículas o que faz diminuir a rotação. Solventes polares proporcionam aumento da rotação óptica:

☑ Solvente apolar \Rightarrow associação de moléculas soluto \Rightarrow rotação óptica baixa

☑ Solvente polar \Rightarrow dissociação de moléculas soluto \Rightarrow rotação óptica alta

Dicroísmo circular

Pode-se utilizar a polarimetria para caracterizar as substâncias. Contudo, mesmo estas podem sofrer rotação óptica. Pode-se ainda efectuar um estudo da rotação óptica em função do comprimento de onda. Ainda assim, isto pode não levar à caracterização, pois dentro da própria molécula podem ocorrer alterações. Pode-se efectuar um estudo que especifique partes da molécula. Se a substância for opticamente activa e estudada em equipamento específico, pode-se identificar os seus componentes.



Para determinado comprimento de onda, a componente D e a L rodam segundo determinado ângulo e são adsorvidas. Como resultado tem-se

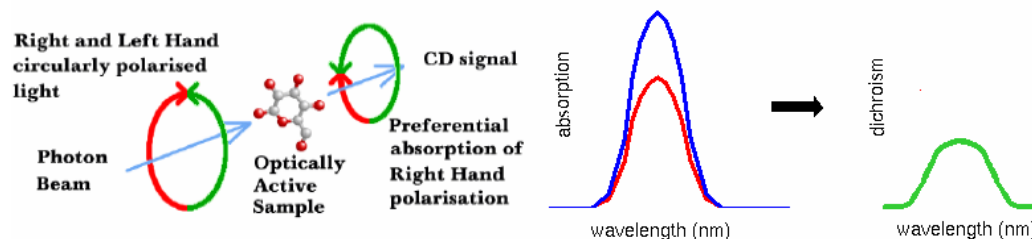
Dicroísmo circular = rotação do plano de polarização da luz + diferença de absorção dos componentes circularmente polarizados. Ocorre só em regiões do espectro onde a amostra absorve:

- UV próximo (250-350nm) – grupos aromáticos de cadeias laterais de triptofano, tirosina e fenilalanina).
- UV longínquo (180-250 nm) – ligações amida que unem os resíduos de aminoácidos entre si.

O dicroísmo traduz-se através da diferença de adsorções entre a componente D e a L.

A forma de traduzir este dicroísmo é através da variação da adsorvibilidade molar que se relaciona não só com a concentração, mas também com a adsorção da componente L e da D.

Birrefringência circular – ocorre em todas as regiões de comprimento de onda onde a substância é opticamente activa



Dicroísmo circular é a diferença entre a absorção das componentes esquerda e direita , circularmente polarizadas e é medida em função do comprimento de onda.

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_D = \frac{A_L - A_D}{lM}$$

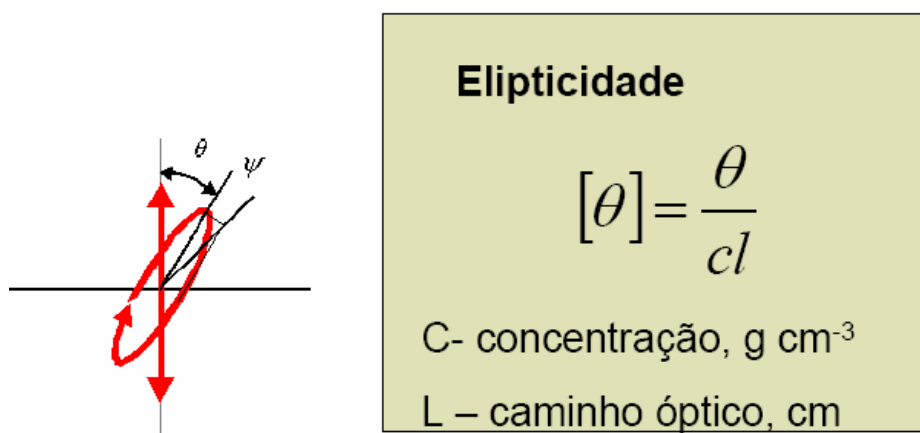
ε -absortividade molar

L- caminho óptico, cm

M- concentração. mol L⁻¹

Dicroísmo Circular

Como resultado da rotação e adsorção, a projecção geométrica da onda resultante é uma elipse.



Assim como o poder rotatório específico é caracterizador da substância, também a elipticidade o é.

$$\theta_r = \frac{2.303}{4} \cdot (A_L - A_R) \cdot [\text{rad}]$$

$$\theta_d = \frac{2.303}{4} \cdot (A_L - A_R) \cdot \frac{180}{\pi} \cdot [\text{deg}]$$

Elipticidade molar

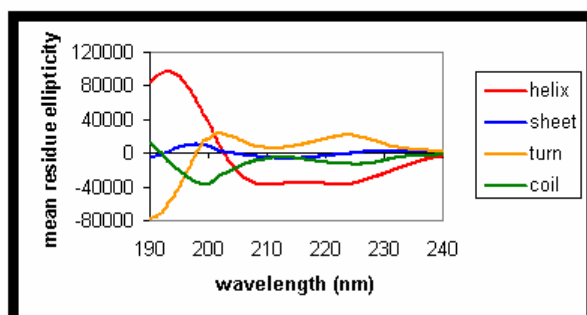
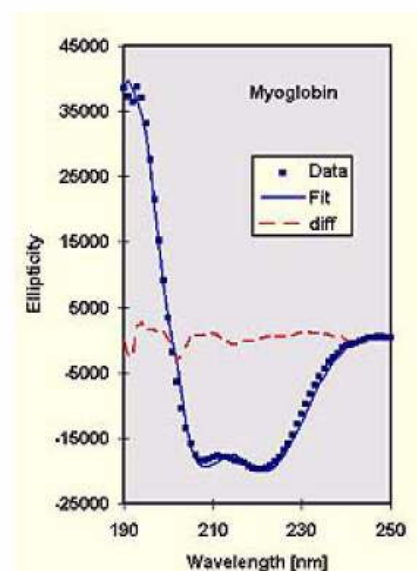
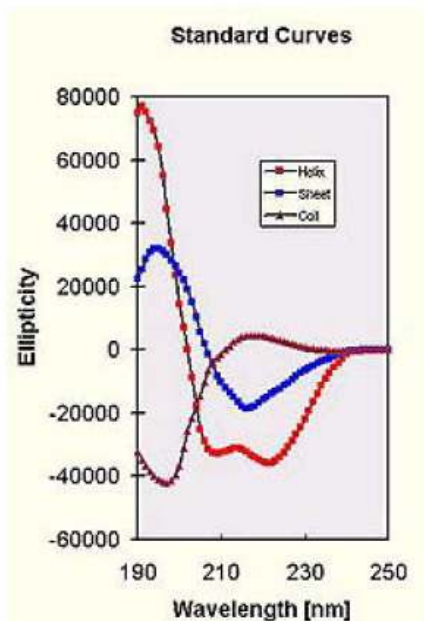
$$[\theta] = \frac{100\psi}{lM}$$

O dicroísmo permite uma caracterização estrutural, comparação da estrutura de proteínas, e mesmo análise de alterações estruturais que decorrem de factores externos.

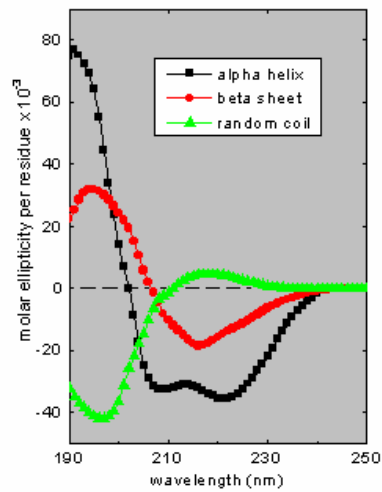
Espectroscopia de dicroísmo circular

- Caracterização estrutural de proteínas (estruturas secundárias, terciárias)
- Comparação de estruturas de proteínas obtidas de diferentes fontes ou comparação de estruturas de diferentes mutantes da mesma proteína
- Análise de variações estruturais das proteínas após perturbação: variações térmicas, variações de pH (variações da composição de tampões), estabilidade a desnaturantes (adição de estabilizantes e excipientes)

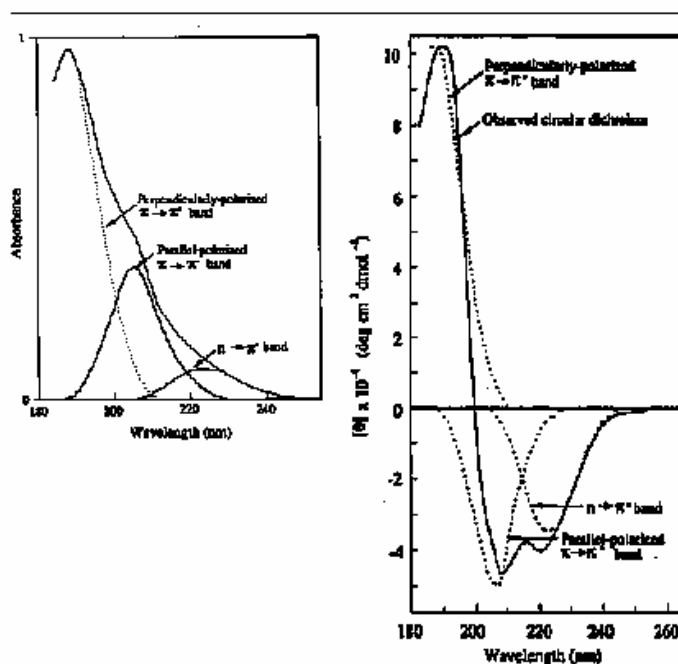
Espectros de dicroísmo circular

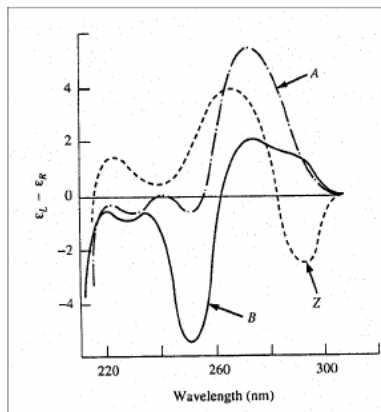


Different types of protein secondary structures (helices, sheets, turns and coils) give rise to different CD spectra

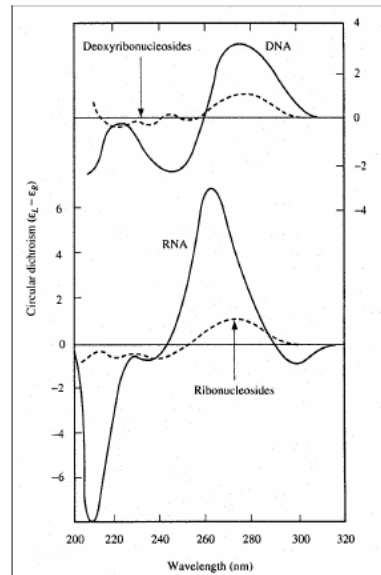


Determinação de estruturas secundárias de proteínas





DC de polinucleótidos sintéticos com diferentes conformações



DC de DNA e RNA comparado com os seus mononucleósidos