

A.9. PONTO DE INFLAMAÇÃO

1. MÉTODO

1.1. INTRODUÇÃO

É útil possuir informação preliminar sobre a inflamabilidade da substância antes de se efectuar este ensaio. O procedimento de ensaio aplica-se a substâncias líquidas cujos vapores possam ser inflamados por fontes de ignição. Os métodos de ensaio enumerados neste texto são apenas fiáveis para os intervalos de pontos de inflamação especificados nos métodos individuais. Deve tomar-se em consideração a possibilidade de ocorrência de reacções químicas entre a substância e o suporte da amostra quando se selecciona o método a utilizar.

1.2. DEFINIÇÕES E UNIDADES

O ponto de inflamação é a menor temperatura, corrigida para a pressão de 101,325 kPa, à qual um líquido liberta vapores, sob as condições definidas no método de ensaio, numa quantidade tal que se produz no recipiente de ensaio uma mistura ar/vapor inflamável.

Unidades: $C_t = T - 273,15$ (t em C e T em K)

1.3. SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA

Não é necessário utilizar substâncias de referência quando se está a investigar uma nova substância. Essas substâncias servem essencialmente para verificar, de vez em quando, as características de execução do método e para proporcionar a comparação com resultados obtidos com outros métodos.

1.4. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Coloca-se a substância no recipiente de ensaio e aquece-se ou arrefece-se até à temperatura de ensaio de acordo com o procedimento descrito no método de ensaio individual. Efectuam-se diversas tentativas para provocar a ignição no sentido de se determinar se a amostra é ou não é inflamável à temperatura de ensaio.

1.5. CRITÉRIOS DE QUALIDADE

1.5.1. Repetitividade

A repetitividade varia de acordo com o intervalo de pontos de inflamação e com o método de ensaio utilizado; máximo 2 C.

1.5.2. Sensibilidade

A sensibilidade depende do método de ensaio utilizado.

1.5.3. Especificidade

A especificidade de alguns métodos de ensaio está limitada a certos intervalos de pontos de inflamação e sujeita a dados associados à substância (v.g. viscosidade elevada).

1.6. DESCRIÇÃO DO MÉTODO

1.6.1. Preparações

Coloca-se uma amostra da substância de ensaio num aparelho de teste de acordo com 1.6.3.1. e/ou 1.6.3.2.. Por razões de segurança recomenda-se que no caso das substância energéticas ou tóxicas se pratique um método que utilize uma pequena quantidade de amostra, cerca de 2 cm³.

1.6.2. Condições de ensaio

Tanto quanto for possível por razões de segurança, o aparelho deverá ser colocado numa posição livre de correntes de ar.

1.6.3. Realização do ensaio

1.6.3.1. Método de equilíbrio

Ver ISO 1516, ISO 3680, ISO 1523, ISO 3679.

1.6.3.2. Método de não equilíbrio

Aparelho de Abel:

Ver BS 2000 parte 170, NF M07-011, NF T66-009.

Aparelho de Abel-Pensky:

Ver EN 57, DIN 51755 parte 1 (para temperaturas entre 5 e 65 C), DIN 51755 parte 2 (para temperaturas inferiores a 5 C), NF M07-036.

Aparelho de Tag:

Ver ASTM D 56.

Aparelho de Pensky-Martens:

Ver ISO 2719, EN 11, DIN 51758, ASTM D 93, BS 2000-34, NF M07-019.

Observações:

No caso de se verificar que o ponto de inflamação, determinado por um método de não equilíbrio em 1.6.3.2., possui os valores 0 ± 2 C, 21 ± 2 C ou 55 ± 2 C, deve fazer-se a sua confirmação recorrendo a um método de equilíbrio que utilize o mesmo aparelho.

Apenas os métodos que possam proporcionar os valores de temperatura do ponto de inflamação podem ser utilizados para uma notificação.

Para se determinar o ponto de inflamação de líquidos viscosos (tintas, gomas e análogos) contendo solventes, apenas se pode utilizar aparelhos e métodos de ensaio adequados para a determinação dos pontos de inflamação de líquidos viscosos.

Ver ISO 3679, ISO 3680, ISO 1523, DIN 53213 parte 1.

2. RESULTADOS

3. RELATÓRIO

O relatório do ensaio deverá conter, se possível, a informação seguinte:

- a especificação exacta da substância (identificação e impurezas),
- deve especificar-se o método utilizado e bem assim quaisquer desvios possíveis,
- os resultados e quaisquer observações adicionais relevantes para a interpretação dos resultados.

4. REFERÊNCIAS

Nenhuma.

A.11 INFLAMABILIDADE (GASES)

1. MÉTODO

1.1. INTRODUÇÃO

Este método permite determinar se os gases misturados com ar à temperatura ambiente (cerca de 20 C) e à pressão atmosférica são inflamáveis e, em caso afirmativo, qual o intervalo de concentrações. As misturas de concentrações crescentes do gás com ar são expostas a uma faísca eléctrica e observa-se a eventual ocorrência de ignição.

1.2. DEFINIÇÃO E UNIDADES

O intervalo de inflamabilidade é o intervalo de concentrações entre os limites inferior e superior de explosão. Os limites inferior e superior de explosão são os limites de concentração do gás inflamável misturado com ar para cujos valores não ocorre a propagação da chama.

1.3. SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA

Não especificadas.

1.4. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Aumenta-se gradualmente a concentração do gás em ar e expõe-se a mistura escalonadamente à acção de uma faísca eléctrica.

1.5. CRITÉRIOS DE QUALIDADE

Não especificados.

1.6. DESCRIÇÃO DO MÉTODO

1.6.1. Aparelho

O recipiente de ensaio é um cilindro de vidro colocado em posição vertical, possuindo um diâmetro interno mínimo de 50 mm e uma altura mínima de 300 mm. Os eléctrodos de ignição encontram-se separados por uma distância de 3 a 5 mm e estão colocados 60 mm acima do fundo do cilindro. O cilindro possui uma abertura para a libertação de pressão. O aparelho deve ser protegido por uma blindagem para minimizar quaisquer danos provocados pela explosão. Como fonte de ignição utiliza-se uma faísca de indução com a duração de 0,5 segundo, a qual é gerada por um transformador de alta tensão com uma tensão de saída compreendida entre 10 e 15 kV (potência máxima de entrada da ordem de 300 W). Na referência (2) encontra-se descrito um exemplo de um aparelho adequado.

1.6.2. Condições de ensaio

O ensaio deve ser efectuado à temperatura ambiente (cerca de 20 C).

1.6.3. Realização do ensaio

Utilizando bombas doseadoras introduz-se no cilindro de vidro uma concentração conhecida de gás em ar. Provoca-se uma faísca na mistura e verifica-se se ocorre ou não a existência de uma chama que se separa da fonte de ignição e se propaga independentemente. Faz-se variar a concentração do gás por escalões de 1 % em volume até que haja ocorrência de ignição conforme anteriormente descrito.

No caso de a estrutura química do gás indicar que poderá ser eventualmente não inflamável e de se poder calcular a composição da mistura estequiométrica com ar, apenas será necessário ensaiar em escalões de 1 % misturas compreendidas no intervalo entre 10 % menos do que a composição estequiométrica e 10 % mais do que essa composição.

2. RESULTADOS

A ocorrência de propagação da chama é a única informação relevante para a determinação desta

propriedade.

3. RELATÓRIO

O relatório do ensaio deverá conter, se possível, a informação seguinte:

- a especificação exacta da substância (identificação e impurezas),
- uma descrição, com dimensões, do aparelho utilizado,
- a temperatura a que se efectuou o ensaio,
- as concentrações de ensaio e os resultados obtidos,
- o resultado do ensaio: gás não inflamável ou gás altamente inflamável,
- no caso de se ter concluído que o gás é não inflamável, deverá especificar-se então o intervalo de concentrações no qual foi ensaiado em escalões de 1 %,
- toda a informação e observações relevantes para a interpretação dos resultados.

4. REFERÊNCIAS

(1) NF T 20-041 (SEPT 85). Chemical products for industrial use. Determination of the flammability of gases.

(2) W.Berthold, D.Conrad, T.Grewer, H.Grosse-Wortmann, T.Redeker und H.Schacke. «Entwicklung einer Standard-Apparatur zur Messung von Explosionsgrenzen». Chem.-Ing.-Tech. 1984, vol 56, 2, 126-127.

A.13 PROPRIEDADES PIROFÓRICAS DE SÓLIDOS E LÍQUIDOS

1. MÉTODO

1.1. INTRODUÇÃO

O procedimento de ensaio é aplicável a substâncias sólidas ou líquidas as quais, em pequenas quantidades, entram espontaneamente em combustão, decorrido um curto período de tempo após estarem em contacto com o ar à temperatura ambiente (cerca de 20 C).

As substâncias que necessitem de estar expostas ao ar durante diversas horas ou dias, à temperatura ambiente ou a temperaturas elevadas, antes que ocorra a ignição, não estão abrangidas por este método.

1.2. DEFINIÇÕES E UNIDADES

Considera-se que uma substância possui propriedades pirofóricas se entrar em combustão ou se carbonizar sob as condições descritas em 1.6.

Pode ser necessário ensaiar também a auto-inflamabilidade de líquidos utilizando o método A.15 relativo à temperatura de auto-ignição (líquidos e gases).

1.3. SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA

Não especificadas.

1.4. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Adiciona-se a substância, no estado sólido ou no estado líquido, a um veículo inerte e coloca-se em contacto com o ar à temperatura ambiente durante um período de cinco minutos. Se as substâncias líquidas não se inflamarem utiliza-se papel de filtro para as absorver e faz-se a exposição ao ar à temperatura ambiente (cerca de 20 C) durante cinco minutos. No caso de uma substância sólida ou líquida se inflamar, ou no caso de um líquido se inflamar ou carbonizar uma folha de papel de filtro, então considera-se que essa substância é pirofórica.

1.5. CRITÉRIOS DE QUALIDADE

Repetitividade: devido à importância que assumem as questões relativas à segurança, um único resultado positivo é suficiente para que essa substância seja considerada pirofórica.

1.6. DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE ENSAIO

1.6.1. Aparelho

Utiliza-se um vaso de porcelana com cerca de 10 cm de diâmetro e enche-se com terra de diatomáceas até cerca de 5 mm de altura, à temperatura ambiente (cerca de 20 C).

Nota:

A terra de diatomáceas ou quaisquer outras substâncias inertes comparáveis geralmente disponíveis, deverão ser consideradas como representativas do solo onde a substância de ensaio possa ser derramada em caso de acidente.

É necessário papel de filtro seco para ensaiar os líquidos que não se inflamem em contacto com o ar quando estão em contacto com um veículo inerte.

1.6.2. Realização do ensaio

a) Sólidos pulverulentos

De uma altura de cerca de 1 m deixa-se cair 1 a 2 cm³ da substância pulverulenta que se pretende ensaiar, sobre uma superfície não combustível e verifica-se a eventualidade dessa substância se inflamar durante a queda ou decorridos cinco minutos em repouso.

Efectua-se o ensaio seis vezes, salvo no caso de se observar combustão.

b) Líquidos

Verte-se no vaso de porcelana cerca de 5 cm³ do líquido que se pretende ensaiar e observa-se a eventual inflamação da substância no período de cinco minutos.

Se não houver inflamação nos seis ensaios, executam-se os ensaios seguintes:

Com o auxílio de uma seringa coloca-se 0,5 ml da amostra de ensaio num papel de filtro recortado e observa-se a eventual ocorrência de inflamação ou de carbonização do papel de filtro nos cinco minutos subsequentes à adição do líquido. Efectua-se o ensaio três vezes, salvo se ocorrer inflamação ou carbonização.

2. RESULTADOS

2.1. TRATAMENTO DOS RESULTADOS

Pode interromper-se o processo de ensaio logo que ocorra um resultado positivo em qualquer dos ensaios.

2.2. AVALIAÇÃO

Se a substância se inflama no período de cinco minutos após ter sido adicionada a um veículo inerte e exposta ao ar, ou se uma substância líquida carboniza ou inflama um papel de filtro no período de cinco minutos após a adição e exposição ao ar, então considera-se que é pirofórica.

3. RELATÓRIO

O relatório do ensaio deverá conter, se possível, a informação seguinte:

- a especificação exacta da substância (identificação e impurezas),
- os resultados dos ensaios,
- quaisquer observações adicionais relevantes para a interpretação dos resultados.

4. REFERÊNCIAS

(1) NF T 20-039 (SEPT 85). Chemical products for industrial use. Determination of the spontaneous flammability of solids and liquids.

(2) Recommendations on the Transport of Dangerous Goods, Test and criteria, 1990, United Nations, New York.

A.15. TEMPERATURA DE AUTO-IGNIÇÃO (LÍQUIDOS E GASES)

1. MÉTODO

1.1. INTRODUÇÃO

As substâncias explosivas e as substâncias que sofrem ignição espontânea em contacto com o ar à temperatura ambiente não devem ser submetidas a este ensaio. O procedimento de ensaio é aplicável a gases, líquidos e vapores, os quais, na presença de ar, podem ser inflamados por uma superfície quente.

A temperatura de auto-ignição pode ser consideravelmente reduzida pela presença de impurezas catalíticas, pela superfície do material ou pelo facto de o recipiente de ensaio ter um volume superior.

1.2. DEFINIÇÕES E UNIDADES

O grau de propensão para a auto-ignição exprime-se em termos de temperatura de auto-ignição. A temperatura de auto-ignição é a menor temperatura para a qual a substância de ensaio se inflama quando misturada com ar sob as condições definidas no método de ensaio.

1.3. SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA

As substâncias de referência estão enumeradas nas normas (ver 1.6.3.). Devem servir essencialmente para a calibração do método, de vez em quando, e para permitir a comparação com resultados obtidos com outros métodos.

1.4. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O método permite a determinação da temperatura mínima da superfície interior de um recinto fechado à qual ocorre a ignição de um gás, vapor ou líquido injectados nesse recinto fechado.

1.5. CRITÉRIOS DE QUALIDADE

A repetitividade varia de acordo com o intervalo de temperaturas de auto-ignição e com o método de ensaio utilizado.

A sensibilidade e a especificidade dependem do método de ensaio utilizado.

1.6. DESCRIÇÃO DO MÉTODO

1.6.1. Aparelho

O aparelho encontra-se descrito no método referido em 1.6.3.

1.6.2. Condições de ensaio

O ensaio de uma amostra da substância efectua-se de acordo com o método referido em 1.6.3.

1.6.3. Realização do ensaio

Ver IEC 79-4, DIN 51794, ASTM-E 659-78, BS 4056, NF T 20-037.

2. RESULTADOS

Regista-se a temperatura de ensaio, a pressão atmosférica, a quantidade de amostra utilizada e o intervalo de tempo decorrido até à ocorrência da ignição.

3. RELATÓRIO

O relatório do ensaio deverá conter, se possível, a informação seguinte:

- a especificação exacta da substância (identificação e impurezas),
- a quantidade de amostra utilizada,
- a pressão atmosférica,
- o aparelho utilizado,
- os resultados das medições (temperaturas de ensaio, resultados relativos à ignição,

correspondentes intervalos de tempo),

- todas as observações adicionais relevantes para a interpretação dos resultados.

4. REFERÊNCIAS

Nenhuma.

A.18. MASSA MOLECULAR MÉDIA EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE MOLES E DISTRIBUIÇÃO DA MASSA MOLECULAR EM POLÍMEROS

1. MÉTODO

O presente método, que utiliza a cromatografia de permeação em gel, é idêntico ao método OCDE TG 118 (1996). Os respectivos fundamentos e outras informações técnicas são apresentados na referência (1).

1.1 INTRODUÇÃO

Tendo em conta a diversidade das propriedades dos biopolímeros, torna-se impossível descrever um único método que estabeleça de modo preciso as condições de separação e avaliação dos mesmos, abrangendo todas as possibilidades e especificidades. Muitos sistemas poliméricos complexos, nomeadamente, não são analisáveis por cromatografia de permeação em gel (GPC). Nos casos em que o recurso a esta técnica não se afigure viável, a massa molecular pode ser determinada através de outros métodos (ver anexo), devendo documentar-se e justificar-se a opção utilizada.

O método descrito baseia-se na norma DIN 55672 (1); esta última contém informações pormenorizadas sobre o modo de execução do ensaio e a avaliação dos respectivos resultados. Caso seja necessário alterar determinadas condições do processo experimental, deve apresentar-se a devida justificação. Podem utilizar-se outras normas, na condição de apresentar as respectivas referências. O método descrito utiliza, para fins de calibração, amostras de poliestireno de polidispersibilidade conhecida, podendo ser necessário efectuar alterações de modo a torná-lo adequado a determinados polímeros, nomeadamente polímeros hidrossolúveis e polímeros reticulados de cadeia longa.

1.2 DEFINIÇÕES E UNIDADES

A massa molecular média em função do número de moles, M_n , e a massa molecular média relativa à massa das espécies, M_w , são determinadas por recurso às equações:

$$M_n = \frac{\sum_{i=1}^n H_i}{\sum_{i=1}^n H_i / M_i} \quad M_w = \frac{\sum_{i=1}^n H_i x M_i}{\sum_{i=1}^n H_i}$$

em que

H_i é a intensidade do sinal do detector correspondente ao volume de retenção V_i , contado a partir da linha de base;

M_i é a massa molecular da fração do polímero correspondente ao volume de retenção V_i , e

n é o número de pontos obtidos experimentalmente.

A amplitude da distribuição de massas moleculares, que constitui uma medida da dispersibilidade do sistema, é dada pelo quociente M_w/M_n .

1.3 SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA

Uma vez que a cromatografia de permeação em gel (GPC) constitui um método relativo, deve efectuar-se uma calibração. Para tal, podem utilizar-se padrões de poliestireno de cadeia linear, com uma distribuição limitada, e massas moleculares médias (M_n e M_w) e distribuição de massas moleculares conhecidas. A curva de calibração apenas pode ser utilizada na determinação da massa molecular da amostra desconhecida caso as condições de separação da referida amostra e dos padrões tenham sido seleccionadas de modo idêntico.

Uma determinada relação entre a massa molecular e o volume de eluição apenas é válida nas condições específicas de cada ensaio. Estas últimas incluem, nomeadamente, a temperatura, o tipo de solvente (ou mistura de solventes), as condições cromatográficas e a coluna ou sistema de colunas de separação.

As massas moleculares da amostra determinadas pelo método em causa constituem valores relativos, sendo designadas “massas moleculares em equivalentes de poliestireno“. Tal facto significa que as massas moleculares podem apresentar desvios relativamente aos valores absolutos em função das diferenças estruturais e químicas entre a amostra e os padrões. Caso se utilizem outros padrões, nomeadamente polietilenoglicol, óxido de polietileno, metacrilato de polimetilo ou ácido poliacrílico, devem justificar-se os motivos.

1.4 PRINCÍPIO DO MÉTODO DE ENSAIO

A determinação da distribuição das massas moleculares, bem como das massas moleculares médias da amostra (M_n , M_w), pode fazer-se por recurso à cromatografia de permeação em gel, que consiste numa variante da cromatografia líquida em que a amostra é separada em função dos volumes hidrodinâmicos dos diversos componentes (2).

A separação é efectuada por passagem através de uma coluna cujo enchimento consiste num material poroso, de modo geral um gel orgânico. As moléculas de dimensões mais reduzidas passam através dos poros, sendo as restantes excluídas. A fixação das moléculas de maiores dimensões é, pois, menor, sendo eluídas em primeiro lugar. As moléculas de dimensões médias passam através de alguns poros, sendo eluídas numa fase posterior. Finalmente, as moléculas de dimensões mais reduzidas, que possuem um raio hidrodinâmico inferior ao dos poros do gel, penetram estes últimos, sendo eluídas em último lugar.

Em condições ideais, a separação é determinada apenas pelas dimensões das moléculas, embora, na prática, seja difícil evitar algumas interferências devidas à adsorção. A não-uniformidade do enchimento e a existência de volumes mortos poderão induzir problemas complementares (2).

A detecção pode ser efectuada com base no índice de refração ou por absorção no ultravioleta, originando uma curva de distribuição simples. Todavia, de modo a atribuir valores de massa molecular aos vários pontos da curva, é necessário efectuar uma calibração por recurso a polímeros de massa molecular conhecida e, se possível, de estrutura similar, nomeadamente padrões de poliestireno. A curva resultante da representação gráfica da quantidade, em massa, das diversas espécies eluídas em função do logaritmo da massa molecular deve exibir uma distribuição de Gauss, por vezes distorcida por uma ligeira assimetria na região das massas moleculares mais reduzidas.

1.5 CRITÉRIOS DE QUALIDADE

A repetibilidade (desvio-padrão relativo) do volume de eluição deve ser superior a 0,3%. Se um cromatograma elaborado em função do tempo não corresponder aos critérios supra, deve assegurar-se a necessária repetibilidade da análise mediante correcção por recurso a um padrão interno (1). As poli-dispersões dependem da massa molecular de cada padrão. No caso da utilização de padrões de poliestireno, os valores característicos são os seguintes:

$M_p < 2000$	$M_w/M_n < 1.20$
$2000 \leq M_p \leq 10^6$	$M_w/M_n < 1.05$
$M_p > 10^6$	$M_w/M_n < 1.20$

em que M_p representa a massa molecular do padrão correspondente ao máximo do pico

1.6 DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE ENSAIO

1.6.1 Preparação das soluções-padrão de poliestireno

Os padrões de poliestireno são dissolvidos, com agitação, no eluente escolhido. Na preparação das soluções devem ter-se em conta as recomendações do fabricante.

As concentrações dos padrões dependem de vários factores, nomeadamente o volume de injeção, a viscosidade da solução e a sensibilidade do detector. Deve adaptar-se o volume de injeção máximo ao comprimento da coluna, de modo a evitar uma sobrecarga. Os volumes de injeção característicos de separações analíticas por cromatografia de permeação em gel com uma coluna de 30 cm x 7,8 mm situam-se, de modo geral, entre 40 e 100 μ l. É possível injectar volumes superiores, que não devem, contudo, exceder 250 μ l. Antes de calibrar a coluna, deve determinar-se o rácio adequado volume de injeção/concentração.

1.6.2 Preparação da solução de amostra

De modo geral, as condições atrás referidas são também aplicáveis à preparação das soluções de amostra. Esta última é dissolvida num solvente adequado, nomeadamente tetra-hidrofurano (THF), sob agitação cuidadosa. Em caso algum deverá utilizar-se um banho de ultrassons. Se necessário, a solução de amostra pode ser purificada por passagem através de um filtro de membrana, cujos poros deverão ter dimensões compreendidas entre 0,2 e 2 μm .

Deve referir-se no relatório final a eventual presença de partículas não-dissolvidas, que poderão conter espécies de massa molecular superior. Deve utilizar-se um método adequado para determinar a percentagem ponderal das partículas em causa. As soluções devem ser utilizadas nas 24 horas subseqüentes à sua preparação.

1.6.3 Equipamento

- reservatório de solvente
- desgaseificador (se adequado)
- bomba
- amortecedor de pulsações (se adequado)
- sistema de injeção
- colunas cromatográficas
- detector
- medidor de caudal (se adequado)
- sistema de registo e processamento de dados
- recipiente para resíduos.

Deve assegurar-se o carácter inerte do sistema cromatográfico em relação aos solventes utilizados (nomeadamente no caso da utilização de capilares de aço com THF).

1.6.4 Sistema de injeção e de aporte de solvente

Introduz-se na coluna um determinado volume de solução de amostra, manualmente ou por intermédio de um amostrador automático, numa zona bem definida. No caso da introdução manual, a compressão do êmbolo ou a retirada da seringa demasiado rápidas poderão determinar alterações na distribuição de massas moleculares obtida. O sistema de aporte de solvente deve ser uniforme, recorrendo, se possível, a um amortecedor de pulsações. O caudal deve ser da ordem de 1 ml/min.

1.6.5 Coluna

Em função do tipo de amostra, os polímeros são analisados por recurso a uma única coluna ou a diversas colunas ligadas em série. Encontram-se disponíveis nos circuitos comerciais colunas de materiais porosos com propriedades (por exemplo, dimensões dos poros, limites de exclusão) bem definidas. A selecção do gel a utilizar, bem como do comprimento da coluna, depende das propriedades da amostra (volumes hidrodinâmicos, distribuição das massas moleculares) e das condições específicas de separação, nomeadamente o tipo de solvente utilizado, a temperatura e o caudal (1)(2)(3).

1.6.6 Pratos teóricos

Deve caracterizar-se a coluna ou sistema de colunas a utilizar na separação pelo respectivo número de pratos teóricos. No caso da utilização de THF como solvente de eluição, introduzir uma solução de etilbenzeno ou outro soluto apolar adequado numa coluna de comprimento conhecido. O número de pratos teóricos é dado pela equação:

$$N = 5.54 \left(\frac{V_e}{W_{1/2}} \right)^2 \quad \text{ou} \quad N = 16 \left(\frac{V_e}{W} \right)^2$$

em que

N representa o número de pratos teóricos,

V_e representa o volume de eluição correspondente ao máximo do pico,

W representa a largura da base do pico,

$W_{1/2}$ representa a largura do pico a meia-altura.

1.6.7 Eficiência de separação

Além do número de pratos teóricos, que determina a largura das bandas, a eficiência de separação, obtida a partir do declive da curva de calibração, desempenha também um papel importante. A eficiência de separação de uma coluna é dada por:

$$\frac{V_{e,Mx} - V_{e,(10Mx)}}{\text{secção transversal da coluna}} \geq 6,0 \left[\frac{\text{cm}^3}{\text{cm}^2} \right]$$

em que

$V_{e,Mx}$ representa o volume de eluição de uma fracção de poliestireno com massa molecular M_x , e

$V_{e,(10Mx)}$ representa o volume de eluição de uma fracção de poliestireno com massa molecular dez vezes superior.

A resolução do sistema é geralmente definida do seguinte modo:

$$R_{1,2} = 2x \frac{V_{e1} - V_{e2}}{W_1 + W_2} x \frac{1}{\log_{10}(M_2 / M_1)}$$

em que

V_{e1} , V_{e2} representam os volumes de eluição dos dois padrões de poliestireno, correspondentes ao máximo dos picos,

W_1 , W_2 representam a largura da base dos picos e

M_1 , M_2 representam as massas moleculares correspondentes aos máximos dos picos, devendo diferir num factor de 10

O valor R do sistema de colunas deve ser superior a 1.7 (4).

1.6.8 Solventes

Todos os solventes devem possuir um elevado grau de pureza (no caso do THF, o grau de pureza deve ser de 99,5%). As dimensões do reservatório de solvente (que pode, se necessário, encontrar-se sob atmosfera inerte) devem ser suficientes para permitir a calibração da coluna e a realização de diversas análises. O solvente deve ser degaseificado antes da sua introdução na coluna por intermédio da bomba.

1.6.9 Controlo da temperatura

A temperatura dos componentes críticos internos (septo de injeção, colunas, detector e tubagens) deve ser constante e adequada ao solvente escolhido.

1.6.10 Detector

A função do detector consiste no registo quantitativo da concentração da amostra eluída da coluna. De modo a evitar o alargamento dos picos, o volume da célula de detecção deve ser tão reduzido quanto possível, não devendo exceder 10 μl , excepto no caso dos detectores de difusão de radiações e de viscosidade. O método de detecção mais corrente consiste na refractometria diferencial. Todavia, se as propriedades específicas da amostra ou do solvente de eluição o justificarem, podem utilizar-se outros tipos de detectores, nomeadamente de radiação ultravioleta/visível, infravermelha e detectores de viscosidade.

2. RESULTADOS E SUA APRESENTAÇÃO

2.1 RESULTADOS

Para pormenores sobre os critérios de avaliação, bem como no que respeita às exigências em matéria de recolha e processamento de dados, deve consultar-se a norma DIN relevante (1).

Devem efectuar-se duas análises independentes e individuais de cada amostra.

Em cada análise, devem determinar-se os parâmetros M_n , M_w , M_w/M_n e M_p . Deve indicar-se explicitamente que os valores determinados constituem valores relativos equivalentes à massa molecular do padrão utilizado.

Após a determinação dos volumes de retenção ou tempos de retenção (eventualmente corrigidos por recurso a um padrão interno), representa-se graficamente o logaritmo de M_p (valor correspondente ao máximo do pico relativo ao padrão de calibração) em função de um dos parâmetros referidos. São necessários pelo menos dois pontos de calibração por década de massas moleculares e pelo menos cinco pontos para a curva total, que deve abranger a massa molecular estimada da amostra. A extremidade da curva de calibração correspondente às massas moleculares mais reduzidas é definida pelo n-hexilbenzeno ou outro solvente apolar adequado. As massas moleculares relativas ao número de moles e à massa das espécies são, em geral, obtidas por processamento electrónico dos dados, com base nas fórmulas que se apresentam em 1.2. Caso se recorra ao tratamento manual dos mesmos, pode consultar-se a norma ASTM D 3536-91 (3).

Deve apresentar-se a distribuição na forma de quadro ou de gráfico (percentagem da soma ou do diferencial da frequência em função de $\log M$). Na representação gráfica, uma década de massas moleculares deve corresponder a cerca de 4 cm, devendo a altura máxima dos picos ser de cerca de 8 cm. No caso de curvas de distribuição integral, a diferença entre 0 e 100% deve corresponder a cerca de 10 cm.

2.2 RELATÓRIO

O relatório do ensaio deve incluir as seguintes informações:

2.2.1 Substância em estudo

- dados disponíveis sobre a substância em estudo (identidade, aditivos, impurezas);
- descrição do tratamento da amostra, observações, problemas surgidos.

2.2.2 Equipamento

- reservatório de eluente, gás inerte, desgaseificação do eluente, composição do eluente, impurezas;
- bomba, amortecedor de pulsações, sistema de injeção;
- colunas de separação (fabricante, todas as informações disponíveis sobre as características das colunas, nomeadamente dimensões dos poros, tipo de material utilizado, número, comprimento e ordem de utilização das colunas);
- número de pratos teóricos da coluna ou sistema de colunas; eficiência de separação (resolução do sistema);
- informações relativas à simetria dos picos;
- temperatura da coluna, tipo de controlo da temperatura utilizado;
- detector (princípio utilizado, tipo, volume da célula);
- medidor de caudal, se utilizado (fabricante, princípio utilizado);
- sistema de registo e processamento dos dados (equipamento e suporte lógico).

2.2.3 Calibração do sistema

- descrição pormenorizada do método utilizado para obter a curva de calibração;
- informações relativas aos critérios de qualidade aplicáveis ao método (por exemplo, coeficiente de correlação, erro quadrático médio, etc.);
- informações relativas às extrapolações, hipóteses e aproximações efectuadas no decurso do processo experimental, bem como da avaliação e processamento dos dados;
- devem apresentar-se na forma de quadro os dados utilizados para a obtenção da curva de calibração, incluindo, para cada ponto de calibração, as seguintes informações:

- nome da amostra;
- fabricante da amostra;
- valores de M_p , M_n , M_w , M_w/M_n característicos dos padrões, fornecidos pelo fabricante ou obtidos em determinações posteriores, bem como pormenores sobre o método de determinação utilizado;
- volume de injeção e concentração da substância injectada,
- valor de M_p utilizado para a calibração;
- volume de eluição ou tempo de retenção corrigido correspondentes ao máximo dos picos;
- valores de M_p correspondentes ao máximo dos picos;
- percentagem de erro dos valores de M_p calculados e do valor de calibração.

2.2.4 Avaliação

- avaliação com base no tempo: métodos utilizados para assegurar a reprodutibilidade requerida (método de correcção, padrão interno, etc.);
- informações que indiquem se avaliação foi efectuada com base no volume de eluição ou no tempo de retenção;
- informações sobre os limites de avaliação, caso um pico não seja totalmente analisado;
- descrição dos eventuais métodos de nivelamento de dados utilizados;
- processos de preparação e tratamento prévio da amostra;
- eventual presença de partículas não-dissolvidas;
- volume de injeção (expresso em μl) e concentração de injeção (expressa em mg/ml);
- observações que indiquem efeitos susceptíveis de induzir desvios relativamente às condições cromatográficas ideais;
- descrição pormenorizada das alterações aos procedimentos de ensaio;
- pormenores relativos às margens de erro;
- quaisquer outras informações e observações que possuam importância para a interpretação dos resultados.

3. REFERÊNCIAS

- (1) DIN 55672 (1995) Gelpermeationschromatographie (GPC) mit Tetrahydrofuran (THF) als Elutionsmittel, Teil 1.
- (2) Yau, W.W., Kirkland, J.J., and Bly, D.D. eds, (1979). Modern Size Exclusion Liquid Chromatography, J. Wiley and Sons.
- (3) ASTM D 3536-91, (1991). Standard Test Method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution by Liquid Exclusion Chromatography (Gel Permeation Chromatography-GPC). American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.
- (4) ASTM D 5296-92, (1992). Standard Test Method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution of Polystyrene by High Performance Size-Exclusion Chromatography. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.

ANEXO

EXEMPLOS DE OUTROS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO

DA MASSA MOLECULAR MÉDIA

EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE MOLES (M_n), EM POLÍMEROS

A cromatografia de permeação em gel constitui o método mais indicado para a determinação de M_n , em especial sempre que se encontre disponível uma série de padrões com estrutura idêntica à do polímero a analisar. Todavia, nos casos em que o recurso aquela técnica apresente dificuldades práticas ou em que se preveja que a substância em causa não satisfaz um critério regulamentar em matéria de M_n , sendo necessário confirmar tal facto, podem aplicar-se métodos alternativos, nomeadamente:

1. **Utilização das propriedades coligativas**

- 1.1. **Ebulioscopia/crioscopia**: estas técnicas baseiam-se, respectivamente, na determinação do aumento do ponto de ebulição e do abaixamento do ponto de congelação de um solvente induzidos pela adição do polímero. O princípio do método consiste no facto de os efeitos do polímero dissolvido no ponto de ebulição ou de congelação do solvente dependerem da massa molecular do polímero (1)(2).

Aplicabilidade: $M_n < 20\ 000$.

- 1.2. **Abaixamento da pressão de vapor**: esta técnica baseia-se na medição da pressão de vapor de um líquido de referência antes de e após a adição de determinadas quantidades do polímero (1)(2).

Aplicabilidade: $M_n < 20\ 000$ (em teoria; na prática, o valor é limitado).

- 1.3. **Osmometria de membrana**: esta técnica baseia-se no princípio da osmose, isto é, da tendência natural das moléculas de solvente de passarem, através de uma membrana semi-permeável, de uma solução diluída para uma solução concentrada, até atingir o equilíbrio. No ensaio em causa, a concentração da solução diluída é nula, enquanto que a solução concentrada contém o polímero. A passagem do solvente através da membrana determina uma diferença de pressão dependente da concentração e da massa molecular do polímero (1)(3)(4).

Aplicabilidade: valores de M_n compreendidos entre 20 000 e 200 000.

- 1.4. **Osmometria de fase de vapor**: esta técnica baseia-se na comparação da velocidade de evaporação de um aerossol de solvente puro com a velocidade de evaporação de, no mínimo, três aerossóis que contêm o polímero em concentrações diversas (1)(5)(6).

Aplicabilidade: $M_n < 20\ 000$.

2. **Análise dos grupos terminais**

A utilização deste método implica o conhecimento simultâneo da estrutura global do polímero e da natureza dos grupos terminais, distinguíveis da cadeia principal por recurso a técnicas tais como a ressonância magnética nuclear, a titulação ou a formação de derivados. Com base na determinação da concentração molecular dos grupos terminais presentes no polímero, pode obter-se a respectiva massa molecular (7)(8)(9).

Aplicabilidade: M_n não superior a 50 000 (com fiabilidade decrescente).

REFERÊNCIAS

- (1) Billmeyer, F.W. Jr., (1984). Textbook of Polymer Science, 3rd Edn., John Wiley, New York.
- (2) Glover, C.A., (1975). Absolute Colligative Property Methods. Chapter 4. In: Polymer Molecular Weights, Part I P.E. Slade, Jr. ed., Marcel Dekker, New York.
- (3) ASTM D 3750-79, (1979). Standard Practice for Determination of Number-Average Molecular Weight of Polymers by Membrane Osmometry. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.
- (4) Coll, H. (1989). membrane Osmometry. In: Determination of Molecular Weight, A.R. Cooper ed., J. Wiley and Sons, pp. 25-52.
- (5) ASTM 3592-77, (1977). Standard Recommended Practice for Determination of Molecular Weight by Vapour Pressure, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.
- (6) Morris, C.E.M., (1989). Vapour Pressure osmometry. In: Determination of Molecular Weight, A.R. Cooper ed., John Wiley and Sons.
- (7) Schröder, E., Müller, G., and Arndt, K-F., (1989). Polymer Characterisation, Carl Hanser Verlag, Munich.
- (8) Garmon, R.G., (1975). End-Group Determinations, Chapter 3 In: Polymer Molecular Weights, Part I, P.E. Slade, Jr. ed. Marcel Dekker, New York.
- (9) Amiya, S., et al. (1990). Pure and Applied Chemistry, 62, 2139-2146.

A.19. TEOR EM POLÍMEROS DE BAIXA MASSA MOLECULAR

1. MÉTODO

O presente método, que utiliza a cromatografia de permeação em gel, é idêntico ao método OCDE TG 119 (1996). Os respectivos fundamentos e outras informações técnicas são apresentados nas referências.

1.1 INTRODUÇÃO

Tendo em conta a diversidade das propriedades dos biopolímeros, torna-se impossível descrever um único método que estabeleça de modo preciso as condições de separação e avaliação dos mesmos, abrangendo todas as possibilidades e especificidades. Muitos sistemas poliméricos complexos, nomeadamente, não são analisáveis por cromatografia de permeação em gel (GPC). Nos casos em que o recurso a esta técnica não se afigure viável, a massa molecular pode ser determinada através de outros métodos (ver anexo), devendo documentar-se e justificar-se a opção utilizada.

O método descrito baseia-se na norma DIN 55672 (1); esta última contém informações pormenorizadas sobre o modo de execução do ensaio e a avaliação dos respectivos resultados. Caso seja necessário alterar determinadas condições do processo experimental, deve apresentar-se a devida justificação. Podem utilizar-se outras normas, na condição de apresentar as respectivas referências. O método descrito utiliza, para fins de calibração, amostras de poliestireno de polidispersibilidade conhecida, podendo ser necessário efectuar alterações de modo a torná-lo adequado a determinados polímeros, nomeadamente polímeros hidrossolúveis e polímeros reticulados de cadeia longa.

1.2 DEFINIÇÕES E UNIDADES

Por convenção, considera-se baixa uma massa molecular inferior a 1000 dalton.

A massa molecular média em função do número de moles, M_n , e a massa molecular média relativa à massa das espécies, M_w , são determinadas por recurso às equações:

$$M_n = \frac{\sum_{i=1}^n H_i}{\sum_{i=1}^n H_i / M_i} \quad M_w = \frac{\sum_{i=1}^n H_i \cdot x M_i}{\sum_{i=1}^n H_i}$$

em que

H_i é a intensidade do sinal do detector correspondente ao volume de retenção V_i , contado a partir da linha de base;

M_i é a massa molecular da fracção do polímero correspondente ao volume de retenção V_i , e

n é o número de pontos obtidos experimentalmente.

A amplitude da distribuição de massas moleculares, que constitui uma medida da dispersibilidade do sistema, é dada pelo quociente M_w/M_n .

1.3 SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA

Uma vez que a cromatografia de permeação em gel (GPC) constitui um método relativo, deve efectuar-se uma calibração. Para tal, podem utilizar-se padrões de poliestireno de cadeia linear, com uma distribuição limitada, e massas moleculares médias (M_n e M_w) e distribuição de massas moleculares conhecidas. A curva de calibração apenas pode ser utilizada na determinação da massa molecular da amostra desconhecida caso as condições de separação da referida amostra e dos padrões tenham sido seleccionadas de modo idêntico.

Uma determinada relação entre a massa molecular e o volume de eluição apenas é válida nas condições específicas de cada ensaio. Estas últimas incluem, nomeadamente, a temperatura, o tipo de solvente (ou mistura de solventes), as condições cromatográficas e a coluna ou sistema de colunas de separação.

As massas moleculares da amostra determinadas pelo método em causa constituem valores relativos, sendo designadas “massas moleculares em equivalentes de poliestireno“. Tal facto significa que as massas moleculares podem apresentar desvios relativamente aos valores absolutos em função das diferenças estruturais e químicas entre a amostra e os padrões. Caso se utilizem outros padrões, nomeadamente polietilenoglicol, óxido de polietileno, metacrilato de polimetilo ou ácido poliacrílico, devem justificar-se os motivos.

1.4 PRINCÍPIO DO MÉTODO DE ENSAIO

A determinação da distribuição das massas moleculares, bem como das massas moleculares médias da amostra (M_n , M_w), pode fazer-se por recurso à cromatografia de permeação em gel, que consiste numa variante da cromatografia líquida em que a amostra é separada em função dos volumes hidrodinâmicos dos diversos componentes (2).

A separação é efectuada por passagem através de uma coluna cujo enchimento consiste num material poroso, de modo geral um gel orgânico. As moléculas de dimensões mais reduzidas passam através dos poros, sendo as restantes excluídas. A fixação das moléculas de maiores dimensões é, pois, menor, sendo eluídas em primeiro lugar. As moléculas de dimensões médias passam através de alguns poros, sendo eluídas numa fase posterior. Finalmente, as moléculas de dimensões mais reduzidas, que possuem um raio hidrodinâmico inferior ao dos poros do gel, penetram estes últimos, sendo eluídas em último lugar.

Em condições ideais, a separação é determinada apenas pelas dimensões das moléculas, embora, na prática, seja difícil evitar algumas interferências devidas à absorção. A não-uniformidade do enchimento e a existência de volumes mortos poderão induzir problemas complementares (2).

A detecção pode ser efectuada com base no índice de refração ou por absorção no ultravioleta, originando uma curva de distribuição simples. Todavia, de modo a atribuir valores de massa molecular aos vários pontos da curva, é necessário efectuar uma calibração por recurso a polímeros de massa molecular conhecida e, se possível, de estrutura similar, nomeadamente padrões de poliestireno. A curva resultante da representação gráfica da quantidade, expressa em massa, das diversas espécies eluídas em função do logaritmo da massa molecular deve exibir uma distribuição de Gauss, por vezes distorcida por uma ligeira assimetria na região das massas moleculares mais reduzidas.

O teor de espécies de baixa massa molecular é determinado a partir da curva. O respectivo cálculo preciso depende da reprodução do comportamento do polímero por parte das referidas espécies, por unidade de massa.

1.5 CRITÉRIOS DE QUALIDADE

A repetibilidade (desvio-padrão relativo) do volume de eluição deve ser superior a 0,3%. Se um cromatograma elaborado em função do tempo não corresponder aos critérios supra, deve assegurar-se a necessária repetibilidade da análise mediante correcção por recurso a um padrão interno (1). As poli-dispersões dependem da massa molecular de cada padrão. No caso da utilização de padrões de poliestireno, os valores característicos são os seguintes:

$M_p < 2000$	$M_w/M_n < 1.20$
$2000 \leq M_p \leq 10^6$	$M_w/M_n < 1.05$
$M_p > 10^6$	$M_w/M_n < 1.20$

(M_p representa a massa molecular do padrão correspondente ao máximo do pico)

1.6 DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE ENSAIO

1.6.1 Preparação das soluções-padrão de poliestireno

Os padrões de poliestireno são dissolvidos, com agitação, no eluente escolhido, tendo em conta as recomendações do fabricante.

As concentrações dos padrões dependem de vários factores, nomeadamente o volume de injeção, a viscosidade da solução e a sensibilidade do detector. Deve adaptar-se o volume de injeção máximo ao comprimento da coluna, de modo a evitar uma sobrecarga.

Os volumes de injeção característicos de separações analíticas por cromatografia de permeação em gel com uma coluna de 30 cm x 7,8 mm situam-se, de modo geral, entre 40 e 100 μl . É possível injectar volumes superiores, que não devem, contudo, exceder 250 μl . Antes de calibrar a coluna, deve determinar-se o rácio adequado volume de injeção/concentração.

1.6.2 Preparação da solução de amostra

De modo geral, as condições atrás referidas são também aplicáveis à preparação das soluções de amostra. Esta última é dissolvida num solvente adequado, nomeadamente tetra-hidrofurano (THF), sob agitação cuidadosa. Em caso algum deverá utilizar-se um banho de ultrassons. Se necessário, a solução de amostra pode ser purificada por passagem através de um filtro de membrana, cujos poros deverão ter dimensões compreendidas entre 0,2 e 2 μm .

Deve referir-se no relatório final a eventual presença de partículas não-dissolvidas, que poderão conter espécies de massa molecular superior. Deve utilizar-se um método adequado para determinar a percentagem ponderal das partículas em causa. As soluções devem ser utilizadas nas 24 horas subsequentes à sua preparação.

1.6.3 Correções determinadas pela presença de impurezas e aditivos

No que respeita ao teor de espécies com $M < 1000$, torna-se geralmente necessário introduzir uma correção destinada a ter em conta a presença de componentes específicos não poliméricos (nomeadamente impurezas e aditivos), excepto no caso de o teor determinado ser inferior a 1%. A referida correção pode ser efectuada por análise directa da solução de polímero ou da solução obtida após a eluição cromatográfica.

Se a solução obtida por eluição cromatográfica for demasiado diluída para permitir a análise, deverá ser concentrada, podendo ser necessário evaporá-la à secura, redissolvendo o resíduo. A concentração deve ser efectuada em condições que assegurem a não-ocorrência de alterações na solução eluída. O tratamento desta depende do método analítico utilizado para a análise quantitativa.

1.6.4 Equipamento

O equipamento de cromatografia de permeação em gel inclui os seguintes componentes:

- reservatório de solvente
- degaseificador (se adequado)
- bomba
- amortecedor de pulsações (se adequado)
- sistema de injeção
- colunas cromatográficas
- detector
- medidor de caudal (se adequado)
- sistema de registo e processamento de dados
- recipiente para resíduos.

Deve assegurar-se o carácter inerte do sistema cromatográfico em relação aos solventes utilizados (nomeadamente no caso da utilização de capilares de aço com THF).

1.6.5 Sistema de injeção e de aporte de solvente

Introduz-se na coluna um determinado volume de solução de amostra, manualmente ou por intermédio de um amostrador automático, numa zona bem definida. No caso da introdução manual, a compressão do êmbolo ou a retirada da seringa demasiado rápidas poderão determinar alterações na distribuição de massas moleculares obtida. O sistema de aporte de solvente deve ser uniforme, recorrendo, se possível, a um amortecedor de pulsações. O caudal deve ser da ordem de 1 ml/min.

1.6.6 Coluna

Em função do tipo de amostra, os polímeros são analisados por recurso a uma única coluna ou a diversas colunas ligadas em série. Encontram-se disponíveis nos circuitos comerciais colunas de materiais porosos com propriedades (por exemplo, dimensões dos poros, limites de exclusão) bem definidas. A selecção do gel a utilizar, bem como do comprimento da coluna, depende das propriedades da amostra (volumes hidrodinâmicos, distribuição das massas moleculares) e das condições específicas de separação, nomeadamente o tipo de solvente utilizado, a temperatura e o caudal (1)(2)(3).

1.6.7 Pratos teóricos

Deve caracterizar-se a coluna ou sistema de colunas a utilizar na separação pelo respectivo número de pratos teóricos. No caso da utilização de THF como solvente de eluição, introduzir uma solução de etilbenzeno ou outro soluto apolar adequado numa coluna de comprimento conhecido. O número de pratos teóricos é dado pela equação:

$$N = 5.54 \left(\frac{V_e}{W_{1/2}} \right)^2 \quad \text{ou} \quad N = 16 \left(\frac{V_e}{W} \right)^2$$

em que

N representa o número de pratos teóricos,

V_e representa o volume de eluição correspondente ao máximo do pico,

W representa a largura da base do pico,

$W_{1/2}$ representa a largura do pico a meia-altura.

1.6.8 Eficiência de separação

Além do número de pratos teóricos, que determina a largura das bandas, a eficiência de separação, obtida a partir do declive da curva de calibração, desempenha também um papel importante. A eficiência de separação de uma coluna é dada por:

$$\frac{V_{e,Mx} - V_{e,(10Mx)}}{\text{secção transversal da coluna}} \geq 6,0 \left[\frac{\text{cm}^3}{\text{cm}^2} \right]$$

em que

$V_{e,Mx}$ representa o volume de eluição de uma fracção de poliestireno com massa molecular M_x , e

$V_{e,(10Mx)}$ representa o volume de eluição de uma fracção de poliestireno com massa molecular dez vezes superior.

A resolução do sistema é geralmente definida do seguinte modo:

$$R_{1,2} = 2x \frac{V_{e1} - V_{e2}}{W_1 + W_2} x \frac{1}{\log_{10}(M_2 / M_1)}$$

em que

V_{e1} , V_{e2} representam os volumes de eluição dos dois padrões de poliestireno, correspondentes ao máximo dos picos,

W_1 , W_2 representam a largura da base dos picos e

M_1 , M_2 representam as massas moleculares correspondentes aos máximos dos picos, devendo diferir num factor de 10

O valor R do sistema de colunas deve ser superior a 1.7 (4).

1.6.9 Solventes

Todos os solventes devem possuir um elevado grau de pureza (no caso do THF, o grau de pureza deve ser de 99,5%). As dimensões do reservatório de solvente (que pode, se necessário, encontrar-se sob atmosfera inerte) devem ser suficientes para permitir a calibração da coluna e a realização de diversas análises. O solvente deve ser degaseificado antes da sua introdução na coluna por intermédio da bomba.

1.6.10 Controlo da temperatura

A temperatura dos componentes críticos internos (septo de injeção, colunas, detector e tubagens) deve ser constante e adequada ao solvente escolhido.

1.6.11 Detector

A função do detector consiste no registo quantitativo da concentração da amostra eluída da coluna. De modo a evitar o alargamento dos picos, o volume da célula de detecção deve ser tão reduzido quanto possível, não devendo exceder 10 μ l, excepto no caso dos detectores de difusão de radiações e de viscosidade. O método de detecção mais corrente consiste na refractometria diferencial. Todavia, se as propriedades específicas da amostra ou do solvente de eluição o justificarem, podem utilizar-se outros tipos de detectores, nomeadamente de radiação ultravioleta/visível, infravermelha e detectores de viscosidade.

2. RESULTADOS E SUA APRESENTAÇÃO

2.1 RESULTADOS

Para pormenores sobre os critérios de avaliação, bem como no que respeita às exigências em matéria de recolha e processamento de dados, deve consultar-se a norma DIN relevante (1).

Devem efectuar-se duas análises independentes e individuais de cada amostra. Em todos os casos, devem efectuar-se também ensaios em branco, em condições idênticas.

Deve indicar-se explicitamente que os valores determinados constituem valores relativos expressos em equivalentes da massa molecular do padrão utilizado.

Após a determinação dos volumes de retenção ou tempos de retenção (eventualmente corrigidos por recurso a um padrão interno), representa-se graficamente o logaritmo de M_p (valor correspondente ao máximo do pico relativo ao padrão de calibração) em função de um dos parâmetros referidos. São necessários pelo menos dois pontos de calibração por década de massas moleculares e pelo menos cinco pontos para a curva total, que deve abranger a massa molecular estimada da amostra. A extremidade da curva de calibração correspondente às massas moleculares mais reduzidas é definida pelo n-hexilbenzeno ou outro solvente apolar adequado. A parte da curva correspondente a massas moleculares inferiores a 1000 determina-se e se necessário corrige-se para aditivos e impurezas. Caso se recorra ao tratamento manual dos mesmos, pode consultar-se a norma ASTM D 3536-91 (3).

Caso fique retido na coluna um polímero insolúvel, é provável que a sua massa molecular seja superior à massa molecular da fracção solúvel, pelo que a não tomada em conta do mesmo no cálculo do teor de espécies de baixa massa molecular determinará uma sobrestimativa deste último. Apresentam-se em anexo directrizes para a correcção do teor de espécies de baixa massa molecular de polímeros insolúveis.

Deve apresentar-se a distribuição na forma de quadro ou de gráfico (percentagem da soma ou do diferencial da frequência em função de $\log M$). Na representação gráfica, uma década de massas moleculares deve corresponder a cerca de 4 cm, devendo a altura máxima dos picos ser de cerca de 8 cm. No caso de curvas de distribuição integral, a diferença entre 0 e 100% deve corresponder a cerca de 10 cm.

2.2 RELATÓRIO

O relatório do ensaio deve incluir as seguintes informações:

2.2.1 Substância em estudo

- dados disponíveis sobre a substância em estudo (identidade, aditivos, impurezas);
- descrição do tratamento da amostra, observações, problemas.

2.2.2 Equipamento

- reservatório de eluente, gás inerte, desgaseificação do eluente, composição do eluente, impurezas;
- bomba, amortecedor de pulsações, sistema de injeção;
- colunas de separação (fabricante, todas as informações disponíveis sobre as características das colunas, nomeadamente dimensões dos poros, tipo de material utilizado, número, comprimento e ordem de utilização das colunas);
- número de pratos teóricos da coluna ou sistema de colunas; eficiência de separação (resolução do sistema);
- informações relativas à simetria dos picos;
- temperatura da coluna, tipo de controlo da temperatura utilizado;
- detector (princípio utilizado, tipo, volume da célula);
- medidor de caudal, se utilizado (fabricante, princípio utilizado);
- sistema de registo e processamento dos dados (equipamento e suporte lógico).

2.2.3 Calibração do sistema

- descrição pormenorizada do método utilizado para obter a curva de calibração;
- informações relativas aos critérios de qualidade aplicáveis ao método (por exemplo, coeficiente de correlação, erro quadrático médio, etc.);
- informações relativas às extrapolações, hipóteses e aproximações efectuadas no decurso do processo experimental, bem como da avaliação e processamento dos dados;
- devem apresentar-se na forma de quadro os dados utilizados para a obtenção da curva de calibração, incluindo, para cada ponto de calibração, as seguintes informações:
 - nome da amostra
 - fabricante da amostra;
 - valores de M_p , M_n , M_w , M_w/M_n característicos dos padrões, fornecidos pelo fabricante ou obtidos em determinações posteriores, bem como pormenores sobre o método de determinação utilizado;
 - volume de injeção e concentração da substância injectada,
 - valor de M_p utilizado para a calibração;
 - volume de eluição ou tempo de retenção corrigido correspondentes ao máximo dos picos;
 - valores de M_p correspondentes ao máximo dos picos;
 - percentagem de erro dos valores de M_p calculados e do valor de calibração.

2.2.4 Informações sobre o teor em polímeros de baixa massa molecular

- descrição dos métodos de análise e dos procedimentos utilizados;
- informações relativas ao teor de espécies de baixa massa molecular da amostra, expresso em percentagem ponderal;
- informações relativas ao teor de impurezas, aditivos e de outras espécies não-poliméricas da amostra, expresso em percentagem ponderal.

2.2.5 Avaliação

- avaliação com base no tempo: métodos utilizados para assegurar a reprodutibilidade requerida (método de correcção, padrão interno, etc.);
- informações que indiquem se avaliação foi efectuada com base no volume de eluição ou no tempo de retenção;
- informações sobre os limites de avaliação, caso um pico não seja totalmente analisado;
- descrição dos eventuais métodos de nivelamento de dados utilizados;
- processos de preparação e tratamento prévio da amostra;
- eventual presença de partículas não-dissolvidas;
- volume de injeção (expresso em μl) e concentração de injeção (expressa em mg/ml);
- observações que indiquem efeitos susceptíveis de induzir desvios relativamente às condições cromatográficas ideais;
- descrição pormenorizada das alterações aos procedimentos de ensaio;
- pormenores relativos às margens de erro;
- quaisquer outras informações e observações que possuam importância para a interpretação dos resultados.

3. REFERÊNCIAS

- (1) DIN 55672 (1995) Gelpermeationschromatographie (GPC) mit Tetrahydrofuran (THF) als Elutionsmittel, Teil 1.
- (2) Yau, W.W., Kirkland, J.J., and Bly, D.D. eds. (1979). Modern Size Exclusion Liquid Chromatography, J. Wiley and Sons.
- (3) ASTM D 3536-91, (1991). Standard Test method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution by Liquid Exclusion Chromatography (Gel Permeation Chromatography-GPC). American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.
- (4) ASTM D 5296-92, (1992). Standard Test method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution of Polystyrene by High Performance Size-Exclusion Chromatography. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania.

ANEXO

DIRECTRIZES PARA A CORRECÇÃO DO TEOR DE ESPÉCIES DE BAIXA MASSA

MOLECULAR DETERMINADA PELA PRESENÇA DE POLÍMEROS INSOLÚVEIS

A presença de polímeros insolúveis na amostra determina perdas de massa no decurso da análise por cromatografia de permeação em gel. Os polímeros insolúveis são retidos de forma irreversível na coluna ou filtro, enquanto que a porção solúvel da amostra prossegue o seu percurso. Se for possível estimar ou determinar o incremento do índice de refração do polímero (dn/dc), pode calcular-se a perda de massa na coluna. Neste caso, efectua-se uma correcção por recurso à calibração externa do refractómetro com substâncias-padrão de concentração e dn/dc conhecidos. No exemplo que se segue, utiliza-se um padrão de poli(metacrilato de metilo) (pMMA).

No caso dos polímeros acrílicos, a calibração externa consiste na análise por cromatografia de permeação em gel de uma solução de um padrão de pMMA em tetra-hidrofurano, de concentração conhecida; os dados resultantes são utilizados para calcular a constante do refractómetro, por recurso à fórmula:

$$K = R/(C \times V \times dn/dc)$$

em que

K representa a constante do refractómetro, expressa em mV.s/ml,

R representa a resposta do padrão de pMMA, expressa em mV.s,

C representa a concentração do padrão de pMMA, expressa em mg/ml,

V representa o volume de injeção, expresso em ml,

dn/dc representa o incremento do índice de refração relativo à solução de pMMA em tetra-hidrofurano, expresso em ml/mg.

Os valores infra são característicos de um padrão de pMMA:

$$R = 2937891$$

$$C = 1,07 \text{ mg/ml}$$

$$V = 0,1 \text{ ml}$$

$$dn/dc = 9 \times 10^{-5} \text{ ml/mg}$$

O valor de K resultante ($3,05 \times 10^{11}$) é utilizado para o cálculo da resposta teórica do detector no caso da eluição e detecção da totalidade do polímero injectado.

A.20. COMPORTAMENTO DOS POLÍMEROS NA DISSOLUÇÃO/EXTRACÇÃO AQUOSA

1. MÉTODO

O presente método é idêntico à versão revista do método OCDE TG 120 (1997). As informações técnicas específicas são apresentadas na referência (1).

1.1 INTRODUÇÃO

No caso de determinados polímeros, nomeadamente polímeros de emulsão, pode ser necessário efectuar trabalhos preliminares antes da aplicação do método descrito infra. O método não é aplicável a polímeros líquidos e polímeros que reajam com a água nas condições de ensaio.

Nos casos em que a aplicação do método não se afigure viável, pode investigar-se o comportamento dos polímeros na dissolução/extracção aquosa por recurso a outros métodos, devendo apresentar-se a justificação de tal facto, bem como a descrição pormenorizada dos métodos em causa.

1.2 SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA

Não aplicável

1.3 PRINCÍPIO DO MÉTODO DE ENSAIO

O comportamento dos polímeros na dissolução/extracção aquosa é determinado através do método do recipiente de vidro (ver A.6 - Solubilidade em água - método do recipiente de vidro, alterado do modo que se descreve de seguida).

1.4 CRITÉRIOS DE QUALIDADE

Não aplicável

1.5 DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE ENSAIO

1.5.1 Equipamento

O equipamento necessário à aplicação do método é o seguinte:

- dispositivo de trituração (por exemplo, triturador que produza partículas de dimensões conhecidas)
- dispositivo de agitação com possibilidade de controlo da temperatura
- sistema de filtros de membrana
- equipamento analítico adequado
- crivos normalizados.

1.5.2 Preparação da amostra

Por recurso a crivos adequados, reduz-se uma amostra representativa a uma granulometria compreendida entre 0,125 e 0,25 mm. De modo a assegurar a estabilidade da amostra ou do processo de trituração, pode ser necessário utilizar um sistema de refrigeração. Os materiais com consistência idêntica à da borracha podem ser triturados à temperatura do azoto líquido (1).

Caso não se obtenham partículas com a granulometria desejada, deve procurar reduzir-se tanto quanto possível as dimensões das mesmas, referindo tal facto no relatório. Este último deve também indicar o modo de armazenagem da amostra triturada, antes da sua utilização no ensaio.

1.5.3 Procedimento

Pesam-se três porções de 10 g da substância em estudo, que se colocam em três recipientes munidos de rolhas de vidro, a cada um dos quais se adicionam 1000 ml de água. Caso a utilização de 10 g de amostra se revele impraticável, deve utilizar-se a quantidade máxima possível, ajustando o volume de água proporcionalmente à mesma.

Os recipientes são hermeticamente fechados e agitados a 20° C. Deve utilizar-se um dispositivo de agitação ou dissolução que funcione a temperatura constante. Após 24 horas, centrifuga-se ou filtra-se o conteúdo de cada recipiente, determinando-se a concentração do polímero na fase aquosa límpida por recurso a um método analítico adequado. Caso não se encontrem disponíveis métodos analíticos adequados aplicáveis à fase aquosa, pode estimar-se a solubilidade ou extractividade totais com base na massa a seco do resíduo de filtração ou do precipitado obtido por centrifugação.

Em geral, é necessário efectuar uma distinção quantitativa entre as impurezas e os aditivos, por um lado, e as espécies de baixa massa molecular, por outro. No caso da determinação gravimétrica, deve também efectuar-se um ensaio em branco, de modo a avaliar a contribuição de eventuais resíduos decorrentes do processo experimental.

O comportamento dos polímeros na dissolução/extracção aquosa a 37°C a pH 2 e pH 9 determina-se como descrito para a experiência a 20°C. O pH das soluções é corrigido através da adição quer de tampões quer de ácidos ou bases adequados, nomeadamente ácido clorídrico, ácido acético, hidróxido de sódio ou de potássio de qualidade analítica e amónia.

Em função do método analítico utilizado, devem efectuar-se um ou dois ensaios. Sempre que seja possível utilizar métodos suficientemente específicos que permitam a determinação directa do componente polimérico na fase aquosa, pode efectuar-se um único ensaio, tal como descrito supra. Todavia, caso tal não seja possível e seja necessário determinar o comportamento dos polímeros na dissolução/extracção aquosa do polímero por um processo indirecto, nomeadamente através da determinação do teor de carbono orgânico total do extracto aquoso, deve efectuar-se um ensaio complementar em triplicado, utilizando amostras de polímeros dez vezes inferiores e volumes de água idênticos aos utilizados no primeiro ensaio.

1.5.4 Análise

1.5.4.1 Ensaio efectuado com uma única granulometria

Alguns métodos permitem a análise directa dos componentes poliméricos na fase aquosa. Todavia, como alternativa, pode proceder-se à análise indirecta dos componentes poliméricos dissolvidos/extraídos mediante a determinação do teor total de componentes solúveis, aplicando uma correcção destinada a ter em conta a presença de componentes específicos não-poliméricos.

A determinação das espécies poliméricas totais na fase aquosa pode ser efectuada por recurso a um método suficientemente sensível, como, por exemplo:

- determinação do carbono orgânico total mediante digestão com persulfato ou dicromato, de modo a obter CO₂, que é seguidamente doseado por espectroscopia de infravermelhos ou análise química;
- espectrometria de absorção atómica ou, no caso de polímeros que contenham silício ou metais, de plasma indutivo;
- espectroscopia de absorção ou espectrofluorimetria no ultravioleta, no caso de polímeros arílicos;
- cromatografia em fase líquida acoplada com espectrometria de massa, no caso de amostras de baixa massa molecular;

A referida determinação pode também ser efectuada por evaporação à secura, sob vácuo, do extracto aquoso, seguida de análise do resíduo por espectroscopia de infravermelhos, ultravioleta, etc. ou espectrometria de absorção atómica de plasma indutivo.

Caso a análise da fase aquosa não seja viável, esta última deve ser extraída com um solvente orgânico não miscível em água, nomeadamente um hidrocarboneto clorado. Procede-se em seguida à evaporação do solvente e determinação do teor de polímero de acordo com o método descrito supra. Na determinação do grau de dissolução/extracção do polímero devem subtrair-se quaisquer componentes do resíduo identificados como impurezas ou aditivos.

Caso se encontrem presentes quantidades relativamente elevadas das referidas matérias, pode ser necessário analisar o resíduo por HPLC ou cromatografia em fase gasosa, com o objectivo de distinguir as impurezas do monómero e das espécies presentes derivadas do mesmo, de modo a determinar o respectivo teor.

Em alguns casos, poderá bastar a evaporação do solvente orgânico à secura e subsequente pesagem do resíduo seco.

1.5.4.2 **Ensaio efectuado com duas granulometrias**

Determina-se o teor de carbono orgânico total dos extractos aquosos.

Efectua-se uma determinação gravimétrica com a porção não-dissolvida e não-extraída da amostra. Se, após a centrifugação ou filtração do conteúdo de um determinado recipiente, permanecerem resíduos poliméricos nas respectivas paredes, deve lavar-se o mesmo com o filtrado até que não se observem quaisquer resíduos, procedendo então a uma nova centrifugação e filtração. Os resíduos que permaneçam no filtro ou no tubo de centrifugação são secos a 40° C, sob vácuo, e pesados.

2. **RESULTADOS**

2.1 **ENSAIO EFECTUADO COM UMA ÚNICA GRANULOMETRIA**

Devem apresentar-se os resultados relativos a cada recipiente, bem como os valores médios, expressos em unidades de massa por volume de solução (de modo geral, mg/l) ou de massa por massa de amostra de polímero (de modo geral, mg/g). Deve também fornecer-se a perda de massa da amostra, expressa no quociente entre a massa de soluto e a massa inicial da amostra, bem como os desvios-padrão relativos. Devem apresentar-se dados relativos à totalidade da substância (polímero + aditivos essenciais, etc.) e apenas ao polímero (após subtracção do teor de aditivos).

2.2 **ENSAIO EFECTUADO COM DUAS GRANULOMETRIAS**

Os teores de carbono orgânico total dos diversos extractos aquosos (ensaios em triplicado), bem como o valor médio relativo a cada ensaio, devem ser expressos em unidades de massa por volume de solução (de modo geral, mgC/l) ou de massa por massa de amostra de polímero (de modo geral, mgC/g).

O facto de não se observarem diferenças entre os resultados relativos aos rácios superior e inferior amostra/água poderá indicar a extracção efectiva de todos os componentes extractáveis. Neste caso, não é geralmente necessário proceder à análise directa.

Devem apresentar-se as massas dos diversos resíduos, expressas em percentagem das massas iniciais das amostras, calculando as médias relativas a cada ensaio. A diferença entre 100% e as percentagens obtidas representa as percentagens de matérias solúveis e extractáveis nas amostras originais.

3. **RELATÓRIO**

3.1 **RELATÓRIO DO ENSAIO**

O relatório do ensaio deve incluir as seguintes informações:

3.1.1 **Substância em estudo**

- informações disponíveis sobre a substância em estudo (identidade, aditivos, impurezas, teor de espécies de baixa massa molecular).

3.1.2 **Condições experimentais**

- descrição dos procedimentos utilizados e das condições experimentais;

- descrição dos métodos analíticos e de detecção utilizados.

3.1.3 Resultados

- solubilidade ou extractividade, expressas em mg/ml; valores individuais e médios obtidos nos ensaios de extracção das diversas soluções, discriminando o teor de polímero e de impurezas, aditivos, etc.;
- solubilidade ou extractividade do polímero, expressas em mg/ml;
- teor de carbono orgânico total dos extractos aquosos, massa do soluto e percentagens calculadas, se for caso disso;
- pH de cada amostra;
- resultados dos ensaios em branco;
- sempre que necessário, referências à instabilidade química da substância em estudo no decurso dos processos de ensaio e analítico;
- quaisquer informações que possam importância para a interpretação dos resultados.

4. REFERÊNCIAS

- (1) DIN 53733 (1976): Zerkleinerung von Kunststoffzeugnissen fuer Prufzwecke.