

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Este exemplar corresponde à redação final da  
tese, defendida por Cesar Alexandre de Mello,  
e aprovada pela Comissão Julgadora.  
Campinas, 28 de outubro de 1994**

  
**Fernando Galembeck**

**VERIFICAÇÃO EXPERIMENTAL E MODELAGEM  
TEÓRICA DE UM NOVO TIPO DE ESTRUTURAS  
DISSIPATIVAS**

**Dissertação de Mestrado**

**Cesar Alexandre de Mello**

**Orientador: Prof. Dr. Fernando Galembeck**

*" In this section a mathematical model of the growing embryo will be described. This model will be a simplification and an idealization, and consequently a falsification. It is to be hoped that the features retained for discussion are those of greatest importance in the present state of knowledge "*

*A. Turing, "The Chemical Basis of Morfogenesis", Philos. Trans. R. Soc. London, 1952.*

*À Lígia, minha querida esposa e  
companheira de todos os momentos, aos  
nossos filhos Thomás e Vitor que tantas  
alegrias nos tem trazido*

*e*

*aos meus pais, Neto e Arlete, por terem  
me dado a vida e educado bem,  
dedico.*

## AGRADECIMENTOS

ao Prof. Dr. Fernando Galembeck, pela orientação segura, incentivo e exemplo de conduta científica;

aos meus Professores;

à Maria do Carmo V. Medeiros da Silva pelo apoio nas tarefas de laboratório;

ao Homero C. de Souza Neto, aluno de iniciação científica, pela oportunidade de ensinar, pelo seu auxílio e amizade;

aos amigos, pelos bons momentos, Carlos A. P. Leite, José M. Moita Neto, André Herzog, Jeferson dos Santos e Flávio Maron Vichi;

aos colegas de laboratório, pela boa convivência e cooperação, Efigênia, Ricardo Cosso, Ricardo Ferreira, Míriam Takayasu, Marcelo Gandour, Pompeu P. de Abreu Filho, Elisabeth Fátima, Cobaia, Massami e Vitor;

ao Instituto de Química da Unicamp;

aos Funcionários do Instituto de Química;

ao CNPq, pela bolsa concedida;

e à todas as outras pessoas envolvidas direta ou indiretamente neste trabalho.

## RESUMO

### VERIFICAÇÃO EXPERIMENTAL E MODELAGEM TEÓRICA DE UM NOVO TIPO DE ESTRUTURAS DISSIPATIVAS

Sistemas longe do equilíbrio termodinâmico podem transformar parte da energia a ele fornecida em comportamentos ordenados espacial e/ou temporalmente denominados estruturas dissipativas. Exemplos clássicos de estruturas dissipativas são: celas de Bénard, anéis de Liesegang e reação de Belousov-Zhabotinskii em sistemas sem agitação. As estruturas dissipativas estudadas neste trabalho, observadas pela primeira vez na tese de doutorado de Maria Célia Pires Costa, são obtidas em experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de azul de dextrana e o que visualmente se observa é uma série de estrias azuis paralelas, próximas a base da cela de osmossedimentação.

As estrias foram obtidas aplicando-se sobre um gradiente de densidade, de solução aquosa de sacarose e Ficoll, auto-gerado em cela de osmossedimentação, uma alíquota de uma solução aquosa concentrada de azul de dextrana. A cela assim carregada era levada a uma centrífuga refrigerada de caçapas basculantes: em intervalos de 5, 10, 15, 30 e 60 minutos a centrífuga era parada e a cela de osmossedimentação, cuidadosamente removida, era fotografada. As estrias foram visualmente contadas. Os experimentos foram executados segundo um plano fatorial em dois níveis, onde as variáveis exploradas foram: campo centrífugo, volume da alíquota de azul de dextrana e concentração da solução de azul de dextrana.

Os resultados são os números de estrias formadas próximas à base da cela de osmossedimentação e estão apresentados na tabela.

experimento	número de estrias observadas experimentalmente	número de estrias previsto pelo modelo
1	0	0
2	6	5
3	0	0
4	6	5
5	0	0
6	6	6
7	1	1
8	6	7

Foi proposto um mecanismo para formação das estrias segundo o qual estas são formadas devido ao adensamento, por ultrafiltração, na região próxima à base da alíquota de azul de dextrana posta sobre o gradiente de densidade na cela de osmossedimentação. A partir desse mecanismo foi elaborado um modelo teórico para formação das estrias, que possui boa concordância com os resultados experimentais, como está apresentado na tabela.

# ABSTRACT

## Experimental Verification and Theoretical Modelling of a New Type of Dissipative Structure

Systems far from equilibrium conditions may transform part of their energy in spatial and/or temporal ordered behaviours, called dissipative structures. Classical examples of such dissipative structures are: the Bénard cells, the Liesegang rings and the Belousov-Zhabotinskii reaction in not stirred systems. The dissipative structures investigated in this work, observed for the first time in the Ph.D. work of Maria Célia Pires Costa, are observed in zonal osmocentrifugation experiments of high concentrated solutions of blue dextran.

Visually one observes a series of parallel blue stripes, near to the bottom of the osmossedimentation cell.

The stripes were formed by the following procedure. A zone of concentrated aqueous solution of blue dextran was put over a density gradient. The density gradient was self-generated in an osmossedimentation cell from an aqueous solution of sacrose and Ficoll. The cell with blue dextran zone was centrifugated and after 5, 10, 15, 30, 60 minutes the centrifugation was interrupted and the osmossedimentation cell photographed. The number of the stripes was visually determined. The experiments were carried out following a factorial design in two levels, where the variables were: centrifugal field, volume and concentration of the blue dextran zone.

The results are the number of stripes formed near the bottom of the osmossedimentation cell and are presented in the table below.

Experiment	Number of stripes (experimental)	Number of stripes (calculated by the model)
1	0	0
2	6	5
3	0	0
4	6	5
5	0	0
6	6	5
7	1	1
8	6	7

A mechanism for the formation of the stripes was proposed. According to this mechanism the stripes are formed due to a concentration process, by ultrafiltration, in the region near the base of the zone of blue dextran put on the density gradient. A theoretical model for the formation of the stripes, based on the proposed mechanism, was elaborated. A good agreement with the experimental results is observed, as shown in the table above.

# Conteúdo

<b>Resumo</b>	<i>i</i>
<b>Abstract</b>	<i>ii</i>
<b>Conteúdo</b>	<i>iii</i>
<b>1. Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 Termodinâmica dos processos irreversíveis - A região linear	1
1.1.1 O princípio de Curie	7
1.1.2 A produção de entropia	7
1.2 Termodinâmica dos processos irreversíveis-A região não linear	10
1.2.1 O experimento de Bénard - A convecção térmica	10
1.2.2 Formação de estruturas dissipativas em reações químicas	15
1.3 Osmossedimentação	25
1.4 Sedimentação em gradiente de densidade	29
1.5 Formação de estruturas dissipativas em osmocentrifugação zonal	30
<b>2. Objetivo</b>	<b>32</b>
<b>3. Parte experimental e resultados</b>	<b>33</b>
3.1 Materiais	33

<b>3.2 Métodos</b>	<b>34</b>
3.2.1 Preparo das membranas assimétricas de acetato de celulose	34
3.2.2 Determinação do volume parcial específico da dextrana azul	36
3.2.3 Determinação do volume parcial específico da PVP-I <sub>2</sub>	38
3.2.4 Obtenção do gradiente de densidade por osmossedimentação	39
3.2.5 Osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de dextrana azul	43
3.2.6 Osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de PVP-I <sub>2</sub>	55
<b>4. Discussão</b>	<b>60</b>
4.1 Análise quimiométrica dos resultados experimentais	60
4.2 O Modelamento do fenômeno	62
4.2.1 Modelo qualitativo	62
4.2.2 Modelo quantitativo	66
4.2.3 Número adimensional para a formação das estrias	93
4.2.4 Efeito da geometria da cela	95
<b>5. Conclusões</b>	<b>96</b>
<b>6. Apêndice A</b>	<b>97</b>
<b>7. Bibliografia</b>	<b>106</b>

# 1. Introdução

## 1.1 Termodinâmica dos processos irreversíveis - "A região linear"

A ciência ocidental tem sido marcada, desde Newton, pela interpretação dos fenômenos naturais em termos de seus "blocos" constituintes e das interações entre eles. Implícita nesta visão clássica, analítica e reducionista, está a idéia de que conhecendo-se o conjunto de leis que regem um certo fenômeno podemos descrever sua evolução de maneira única, na qual pequenas mudanças nas causas levam a pequenas mudanças nos efeitos. Esta visão garantiu aos seus adeptos uma ponte matemática entre passado e futuro<sup>1</sup>.

Inserida neste contexto, a Termodinâmica clássica limitou-se, até a década de trinta, aos processos reversíveis e à previsão do sentido dos processos irreversíveis, isto é, da espontaneidade.

Havia várias razões de natureza prática para esta limitação. Por exemplo, para crescer um "bom" cristal, isto é, um cristal com poucos defeitos em sua estrutura cristalina, são necessárias condições próximas do equilíbrio e para maximizar o rendimento de uma máquina térmica é necessário minimizar fenômenos irreversíveis, como o atrito e a perda de calor. Somava-se a estes fatos a falta de base teórica para a interpretação dos processos irreversíveis.

Processos reversíveis não possuem direção privilegiada no tempo. As equações que os descrevem devem portanto, ser invariantes quanto à troca do sinal algébrico da variável tempo. Como exemplo, consideremos a equação que descreve a propagação de uma onda em um meio não absorvente:

$$\frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \mu}{\partial t^2} = \frac{\partial^2 \mu}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \mu}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \mu}{\partial z^2} \quad \text{eq.(1.1)}$$

Obviamente a equação 1.1 é invariante quanto à troca de t por -t e a propagação descrita por esta equação é um processo reversível.

Todavia, há processos que evoluem em uma única direção no tempo. Se colocarmos juntos dois líquidos como água e álcool eles irão se misturar espontaneamente, com o passar do tempo. Porém nunca observaremos o processo inverso, isto é, a separação espontânea da mistura em água e álcool puros. Portanto este é um processo irreversível. Uma vez que processos irreversíveis possuem uma direção privilegiada no tempo, as equações que os descrevem não são invariantes com a troca do sinal algébrico do tempo<sup>2</sup>. Como exemplo, consideremos a segunda lei de Fick em uma dimensão, a qual é da seguinte forma:

$$\boxed{\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}} \quad \text{eq.(1.2)}$$

A equação 1.2 não é invariante com a troca do sinal algébrico do tempo e portanto descreve um processo irreversível.

A partir da década de trinta, a análise e interpretação de processos irreversíveis sofreu um grande avanço devido ao aparecimento das relações de Onsager<sup>3</sup>. Estas relações possibilitaram estender os métodos da termodinâmica clássica para se estudar processos irreversíveis ocorrendo nas vizinhanças do equilíbrio termodinâmico.

Esta extensão da termodinâmica clássica é chamada de termodinâmica de não equilíbrio linear. É aplicável a sistemas em que os fluxos ou taxas dos processos irreversíveis são funções lineares das forças termodinâmicas que os causam<sup>4</sup>, e as "forças" são gradientes dos potenciais de interesse para o sistema. A única condição que deve ser satisfeita por uma força é que o produto desta pelo seu fluxo conjugado tenha dimensões de taxa de produção de entropia (entropia por tempo).

As relações de reciprocidade de Onsager mostram também a possibilidade de acoplamento entre fluxos e forças, em processos irreversíveis. Em termos qualitativos: uma força 1 correspondente ao gradiente de uma variável de estado qualquer (por exemplo, gradiente de temperatura) pode induzir, além do fluxo 1 diretamente relacionado (fluxo de calor), um fluxo 2 não diretamente relacionado (por exemplo, fluxo difusivo).

Sendo assim, a força 2 (gradiente de potencial químico), diretamente relacionada ao fluxo 2, também pode influenciar o fluxo de calor. Este acoplamento foi observado experimentalmente em diversos casos. Entre eles destaca-se o efeito Peltier-Seebeck, no qual um gradiente de temperatura em uma junta bimetálica induz além do fluxo de calor, um fluxo de carga, isto é corrente elétrica.

As relações de Onsager são de natureza geral, não dependendo de o processo irreversível ocorrer em meio sólido, líquido ou gasoso.

A formulação quantitativa das relações de Onsager pode ser resumida da seguinte maneira:

1. A teoria baseia-se no postulado do equilíbrio local, no qual os processos diretos e inversos ocorrem em média com a mesma velocidade.

2. Podem-se escrever equações termodinâmicas para os vários processos de transporte nas quais os fluxos ou velocidades de escoamento são iguais a uma soma de termos, cada um dos quais é linearmente proporcional a uma força termodinâmica. A condição de linearidade é uma importante restrição ao intervalo de validade da teoria e sua aplicação será restrita à região do domínio onde a linearidade é válida<sup>5</sup>.

As equações de movimento tomam a forma geral, no caso de dois fluxos  $J_1$  e  $J_2$ :

$$J_1 = L_{11} X_1 + L_{12} X_2 \quad \text{eq.(1.3)}$$

$$J_2 = L_{21} X_1 + L_{22} X_2 \quad \text{eq.(1.4)}$$

Nas equações anteriores  $J_1$  poderia ser o fluxo de calor e  $J_2$ , o fluxo de massa;  $X_1$  seria o gradiente de temperatura e  $X_2$  o gradiente de potencial químico. Os Termos  $L_{ij}$  são os coeficientes fenomenológicos diretos ou ordinários e fornecem o fluxo de uma propriedade em termos da força diretamente relacionada ao fluxo considerado. Os Termos  $L_{ij}$  são os coeficientes cruzados ou de arraste e fornecem o fluxo de uma quantidade, causado por uma força que não lhe é diretamente relacionada. Por exemplo, na equação 1.4 o fluxo de matéria ( $J_2$ ) causado pelo gradiente de temperatura é determinado pelo coeficiente fenomenológico de arraste  $L_{21}$  e o fluxo de

calor ( $J_1$ ) causado pelo gradiente de potencial químico é determinado pelo coeficiente de arraste  $L_{12}$ .

Onsager mostrou que se os fluxos forem variações de uma função de estado com o tempo ou se o produto dos fluxos com as forças termodinâmicas tiverem dimensões de entropia por tempo<sup>6</sup>, teremos sempre que  $L_{12} = L_{21}$  ou de modo geral:

$$\boxed{L_{ij} = L_{ji}} \quad \text{eq.(1.5)}$$

Algumas das aplicações mais valiosas da termodinâmica linear dos processos irreversíveis se encontram onde duas ou mais forças estão agindo simultaneamente e com acoplamento, como ocorre em eletroosmose, efeito Peltier-Seebeck e osmossedimentação<sup>7</sup>.

A seguir faremos a aplicação dos conceitos desenvolvidos até este ponto, para um efeito eletrocinético muito simples, mas que ilustra de maneira clara e didática a aplicação das relações de Onsager.

Quando duas soluções iônicas são separadas por uma membrana ou barreira porosa, através da qual se imprime uma diferença de potencial elétrico ou uma diferença de pressão, um certo número de efeitos eletrocinéticos interessantes são observados. Um arranjo esquemático da situação experimental anterior está ilustrado na figura 1.1

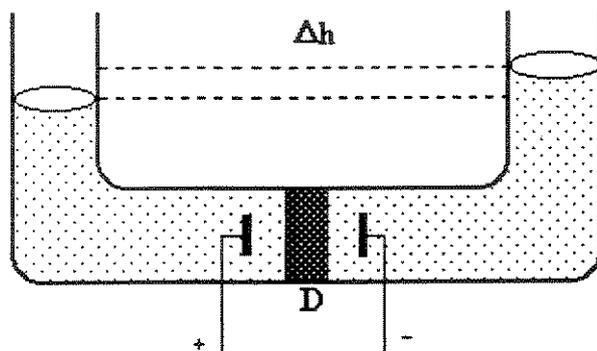


Figura 1.1: Aparelho para a medida da pressão eletrosmótica(esquemático). Uma diferença de potencial aplicada através da parede porosa D determina uma diferença de pressão  $\Delta h$  no equilíbrio.

A temperatura e a composição são mantidas uniformes através das soluções e as duas regiões diferem apenas na pressão hidrostática  $\Delta P$  e no potencial elétrico  $\Delta\Phi$ .

Se o fluxo de carga for a corrente elétrica  $I$  e o fluxo de matéria  $J$ , a vazão volumétrica do líquido, as equações fenomenológicas podem ser escritas segundo:

$$I = L_{11} \Delta\Phi + L_{12} \Delta P \quad \text{eq.(1.6)}$$

$$J = L_{21} \Delta\Phi + L_{22} \Delta P \quad \text{eq.(1.7)}$$

com a relação de Onsager:

$$L_{12} = L_{21} \quad \text{eq.(1.8)}$$

Os efeitos eletrocinéticos são agora definidos da seguinte maneira:

1. *Potencial de escoamento*  $\left(\frac{V m^2}{N}\right)$ , é a diferença de potencial elétrico por unidade de diferença de pressão, para corrente elétrica nula:

$$\left(\frac{\Delta\Phi}{\Delta P}\right)_{I=0} = -\frac{L_{12}}{L_{11}} \quad \text{eq.(1.9)}$$

2. *Eletrosmose*  $\left(\frac{m^3\Omega}{V s}\right)$ , é o fluxo de líquido por unidade de corrente elétrica, quando a pressão é uniforme:

$$\left(\frac{J}{I}\right)_{\Delta P = 0} = \frac{L_{21}}{L_{11}} \quad \text{eq.(1.10)}$$

3. *Pressão Eletrosmótica*  $\left(\frac{N}{V m^2}\right)$ , é a diferença de pressão por unidade de diferença de potencial elétrico quando o fluxo de líquido é nulo:

$$\left(\frac{\Delta P}{\Delta \Phi}\right)_{J=0} = -\frac{L_{21}}{L_{22}} \quad \text{eq.(1.11)}$$

4. *Corrente de escoamento*  $\left(\frac{V s}{\Omega m^3}\right)$ , fluxo de carga por unidade de fluxo de matéria à diferença de potencial elétrico nula:

$$\left(\frac{I}{J}\right)_{\Delta \Phi=0} = \frac{L_{12}}{L_{22}} \quad \text{eq.(1.12)}$$

Das relações de Onsager, temos

$$L_{12} = L_{21}$$

e conseqüentemente cada efeito eletrosmótico pode ser relacionado a um efeito de escoamento

$$\left(\frac{\Delta \Phi}{\Delta P}\right)_{J=0} = -\left(\frac{J}{I}\right)_{\Delta P=0} \quad \text{eq.(1.13)}$$

$$\left(\frac{\Delta P}{\Delta \Phi}\right)_{J=0} = -\left(\frac{I}{J}\right)_{\Delta \Phi=0} \quad \text{eq.(1.14)}$$

Como todos os quatro efeitos podem ser medidos independentemente, estas relações foram verificadas **experimentalmente** e confirmou-se que são válidas<sup>8</sup>.

Fenômenos eletrocinéticos, do tipo anterior, foram usados muitas vezes para se obter informações sobre as propriedades das duplas camadas elétricas em interfaces membrana-solução<sup>9</sup>.

Concluimos este item da introdução dizendo que as relações de Onsager tem sido confirmadas experimentalmente numa grande variedade de situações que se afastam consideravelmente do equilíbrio e podem ser usadas com confiança, mesmo se não for com fé inquestionável<sup>10</sup>.

### 1.1.1 O princípio de Curie

Um princípio estabelecido por Pierre Curie em 1900, fornece a condição suficiente para a ausência de acoplamento entre fluxos e forças, de modo que uma força  $X_i$  não possa produzir um fluxo  $J_j$  não diretamente relacionado a tal força. O princípio de Curie pode ser enunciado da seguinte forma: "Causas macroscópicas não podem possuir mais elementos de simetria do que os efeitos que produzem". Uma forma alternativa de enunciar o mesmo princípio é a seguinte: "Fluxos de ordens tensoriais diferentes não se acoplam".

Um exemplo de aplicação do princípio de Curie é o de que a afinidade química  $A$ , que não possui propriedades direcionais e, portanto, é uma quantidade escalar, e por isso não pode produzir um escoamento dirigido de calor, eletricidade ou matéria, porque todos esses escoamentos apresentam propriedades direcionais e, portanto, são menos simétricos de que a afinidade  $A$ .

O exemplo anterior deve ser analisado com cautela, pois se o espaço onde ocorrem os fluxos não for isotrópico a afinidade  $A$  não será necessariamente escalar. Por exemplo, na membrana de uma célula, o acoplamento entre a velocidade de reação e o transporte de componentes pode ocorrer, como ocorre no transporte ativo de íons  $\text{Na}^+$  que está acoplado com a hidrólise de ATP.

### 1.1.2 A produção de entropia

Na termodinâmica clássica, é natural o uso de potenciais termodinâmicos, cujos extremos correspondem a estados de equilíbrio para os

quais os sistemas evoluem reversível ou irreversivelmente. A escolha do potencial relevante será feita em função da situação experimental estudada. Por exemplo, em sistemas isolados, o potencial termodinâmico é a entropia, para sistemas a T e V constantes o potencial é a energia livre de Helmholtz e assim por diante.

Na termodinâmica linear dos processos irreversíveis também é possível, com o auxílio do postulado do equilíbrio local, definir potenciais termodinâmicos análogos aos dos processos reversíveis, chamados de potenciais termodinâmicos locais. Dentre estes, um é de fundamental importância para os processos irreversíveis, a produção local de entropia  $d_i s$ .

Um teorema desenvolvido por Prigogine em 1947, conhecido como teorema da mínima produção de entropia, mostra que na faixa de validade das relações de Onsager um sistema evolui para um estado estacionário caracterizado pela mínima taxa de produção de entropia ( $d_i s/dt$ ), compatível com as restrições externas impostas ao sistema.

Para obtermos a prova deste teorema, consideremos um sistema simples, onde há dois fluxos e duas forças. A produção de entropia é definida como o produto de um fluxo pela sua força conjugada, e as equações fenomenológicas para tal caso são:

$$\sigma = \frac{d_i s}{dt} = J_1 X_1 + J_2 X_2 \quad \text{eq.(1.15)}$$

$$J_1 = L_{11} X_1 + L_{12} X_2 \quad \text{eq.(1.16)}$$

$$J_2 = L_{21} X_1 + L_{22} X_2 \quad \text{eq.(1.17)}$$

Introduzindo as equações 1.16 e 1.17 na equação 1.15, obtemos:

$$\sigma = L_{11} X_1^2 + (L_{12} + L_{21}) X_1 X_2 + L_{22} X_2^2 \quad \text{eq.(1.18)}$$

Vamos impor agora, a restrição de que  $X_1$  seja constante e que  $X_2$  varie. Derivando-se  $\sigma$  com relação a  $X_2$ , mantendo  $X_1$  constante obtemos:

$$\left( \frac{\partial \sigma}{\partial X_2} \right)_{X_1} = (L_{12} + L_{21}) X_1 + 2 L_{22} X_2 \quad \text{eq.(1.19)}$$

Aplicando a relação de Onsager à equação acima, obtemos:

$$\left( \frac{\partial \sigma}{\partial X_2} \right)_{X_1} = 2 L_{12} X_1 + 2 L_{22} X_2 = 2 J_2 \quad \text{eq.(1.20)}$$

De acordo com a definição de estado estacionário ( $J = 0$ ), se  $X_2$  não possui restrição o fluxo conjugado deve se anular e a equação 1.20, torna-se:

$$\left( \frac{\partial \sigma}{\partial X_2} \right)_{X_1} = 0 \quad \text{eq.(1.21)}$$

ou

$$\left[ \frac{\partial}{\partial X_2} \left( \frac{d_i s}{dt} \right) \right]_{X_1} = 0 \quad \text{eq.(1.22)}$$

indicando que a produção interna de entropia  $\sigma$ , tem um extremo no estado estacionário. Desde que  $\sigma$  é por definição<sup>11</sup> sempre maior ou igual a zero, este extremo será um mínimo e o estado estacionário do sistema é um estado em que a produção de entropia assume o mínimo valor possível.

Como vimos, a termodinâmica dos processos irreversíveis linear também descreve seus sistemas em termos de potenciais termodinâmicos cujos extremos correspondem a estados estacionários. Assim, tanto na evolução para o equilíbrio, quanto na evolução para o estado estacionário as condições iniciais são "esquecidas" e a evolução do sistema com o tempo será previsível, uma vez conhecidos os limites externos impostos ao sistema.

## 1.2 Termodinâmica dos processos irreversíveis - A região não-linear

Descrevemos até o momento a visão clássica dos fenômenos naturais e seu grande sucesso, principalmente no que diz respeito à termodinâmica dos sistemas em equilíbrio ou muito próximos dele. Todavia, quando nos afastamos muito do equilíbrio o sistema pode evoluir para um estado estacionário, que não pode ser caracterizado por nenhum potencial termodinâmico, dado que estamos muito longe do equilíbrio. Assim, na ausência de qualquer potencial, o que podemos dizer a respeito da estabilidade do estado estacionário para o qual o sistema evolui?

Neste caso devemos analisar como o estado estacionário reage a diferentes tipos de perturbações ou flutuações. Assim, se o estado estacionário for instável face às perturbações a que o sistema está sujeito, estas podem ser amplificadas levando-o a um novo estado estacionário no qual complexos fenômenos de auto-organização podem ocorrer no sistema.

A auto-organização em sistemas longe do equilíbrio termodinâmico se manifesta através de estruturas espaciais e/ou temporais denominadas *estruturas dissipativas*. Estas estruturas espaciais, que se formam em sistemas longe do equilíbrio termodinâmico, são chamadas de dissipativas para contrastar com as estruturas de equilíbrio da termodinâmica clássica (por exemplo, cristais).

Exemplos clássicos de estruturas dissipativas são: os padrões gerados na reação de Belousov-Zhabotinskii<sup>12, 13</sup>, os anéis de Liesegang<sup>14</sup> e as células de Bénard<sup>15</sup>.

O conceito de estrutura dissipativa será melhor exemplificado nos próximos itens, onde discutiremos seu aparecimento nos experimentos de Bénard e na reação de Belousov-Zhabotinskii.

### 1.2.1 O experimento de Bénard - A convecção térmica

A convecção térmica é o movimento macroscópico de fluidos devido a gradientes de temperatura. Seu estudo está longe de ser puramente acadêmico e mesmo sem considerar as suas numerosas aplicações tecnológicas, a convecção térmica é a base de vários fenômenos importantes em nosso

planeta. Por exemplo, a circulação de fluidos nos oceanos, a deriva continental, e a inversão térmica na atmosfera. Fora do nosso planeta, a convecção térmica é a base da transferência de calor e massa no sol. Além dos fenômenos anteriores, a convecção térmica também é a responsável pela formação das celas de Bénard.

Em laboratório podemos estudar os mecanismos da convecção térmica através de sistemas experimentais extremamente simples. O seguinte experimento realizado pelo pesquisador francês Henri Bénard em 1900, nos permite a visualização e entendimento do fenômeno da auto-organização, devido à convecção térmica, em sistemas distantes do equilíbrio termodinâmico, de uma maneira clara e simples.

Imagine-se uma fina camada de fluido (neste experimento, óleo de baleia espermacete) limitada por duas placas condutoras de calor, planas e paralelas cujas dimensões laterais são muito maiores que a profundidade. Na prática alguns centímetros na horizontal contra alguns milímetros na vertical satisfazem este requisito. Este arranjo experimental é conhecido como cela de convecção e está representado na figura (1.2).

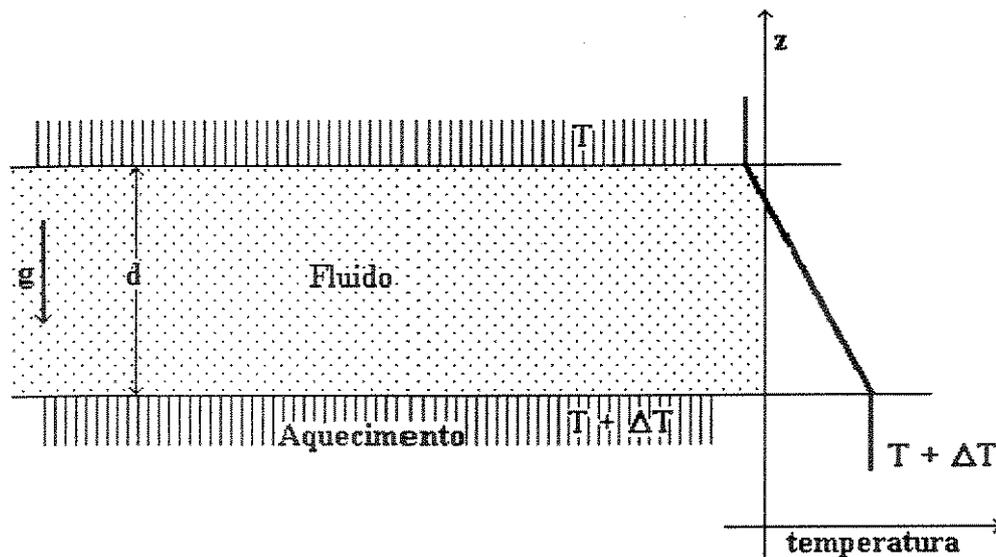


Figura 1.2: Representação esquemática de uma cela de convecção

Antes de se estabelecer o gradiente de temperatura na cela de convecção, o fluido está em um estado "homogêneo", estatisticamente falando, já que todas suas partes serão idênticas. Um hipotético e minúsculo observador, situado em um elemento de volume nesta cela de convecção não terá noção de espaço, já que todos os elementos de volume vizinhos serão idênticos, como na figura (1.3).

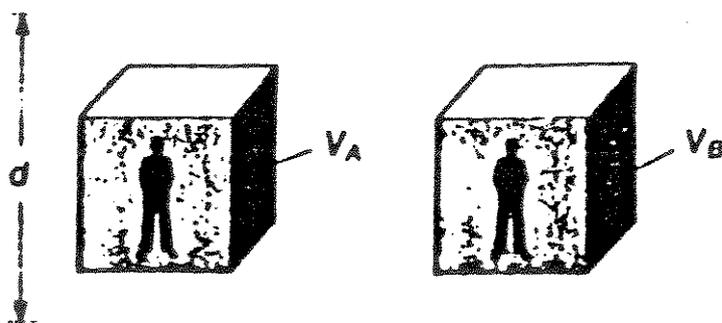


Figura 1.3: Observador em um elemento de volume da cela de convecção

Esta homogeneidade se estenderá para as outras propriedades do sistema e em particular à sua temperatura, que será a mesma em todas as partes e igual a temperatura das placas limitantes. Assim, no equilíbrio não há gradientes de temperatura no sistema e podemos escrever:

$$\boxed{\Delta T = 0}$$

Imagine-se agora que aplicamos uma leve e rápida perturbação na temperatura do sistema. Por exemplo, encostamos a mão rapidamente em uma das placas. Para o nosso sistema em equilíbrio, esta perturbação terá pequeno efeito e rapidamente a temperatura se uniformizará e será igual ao seu valor inicial. Sistemas em estados nos quais as perturbações tendem a "morrer" mais ou menos rapidamente são chamados de *assintoticamente estáveis* (apêndice A). Para o nosso pequeno observador, a estabilidade do estado de equilíbrio torna todos os instantes idênticos, levando-o à perda da noção de tempo.

Agora, ao invés de uma rápida perturbação podemos aquecer a parte inferior de nossa cela de convecção continuamente, estabelecendo um gradiente vertical de temperatura através do fluido. Se o gradiente de

temperatura for pequeno e o fluido for um bom condutor de calor, o sistema adotará um estado simples no qual o único processo que ocorre é o transporte de calor, por condução, da placa de baixo para a placa de cima, a partir da qual será liberado para o ambiente. A única diferença deste estado com o de equilíbrio é que a temperatura e conseqüentemente a densidade não serão mais uniformes no sistema. Elas irão variar de uma maneira praticamente linear da região quente (placa de baixo) para a região fria (placa de cima). Este estado estacionário alcançado pelo sistema é estável e seu comportamento é tão simples quanto o estado de equilíbrio.

Aumentando-se ainda mais o gradiente de temperatura, e afastando ainda mais o sistema do equilíbrio, o fluido mais próximo ao fundo se expandirá tornando-se menos denso que a camada de fluido acima dele e tenderá a subir, devido à força de empuxo que se origina nesta diferença de densidade, iniciando a convecção. Contudo, a convecção só se iniciará após um gradiente de temperatura crítico ser atingido, pois embora o fluido do fundo seja menos denso do que a camada de fluido acima dele, a força de empuxo deve superar os efeitos viscosos do fluido para que se inicie o fluxo convectivo. Além disso, se a difusão de calor da camada expandida para a camada de fluido logo acima for rápida, a temperatura se uniformizará reduzindo o gradiente de temperatura que, obviamente, reduzirá o empuxo impedindo o início do fluxo convectivo.

Estes efeitos, uns que levam à convecção e outros que a inibem, podem ser equacionados através de um número adimensional, conhecido como *número de Rayleigh*, definido como:

$$R_a = \frac{\text{empuxo}}{\eta \kappa} \quad \text{eq.(1.23)}$$

onde  $\eta$  é a viscosidade e  $\kappa$  é o coeficiente de difusão de calor<sup>16, 17</sup>.

O número de Rayleigh é um balanço entre a força motriz(o empuxo) e os efeitos dissipativos (viscosidade e difusão de calor) para o processo, usado para caracterizar o início da convecção.

A convecção só se inicia quando o número de Rayleigh atingir seu valor crítico. Fluidos diferentes apresentarão valores críticos diferentes na

mesma situação experimental. Todavia, uma vez iniciado o fluxo convectivo o fluido quente subirá e ao atingir a superfície resfriará e descerá para ser novamente aquecido, fechando o ciclo representado na figura(1.4).

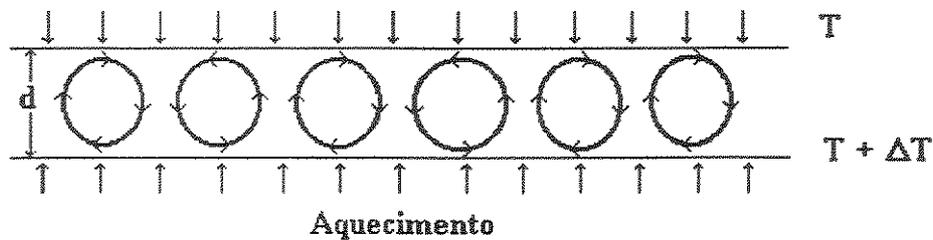


Figura 1.4: Divisão espontânea do fluxo convectivo

Como o fluido que sobe e o fluido que desce não podem fazê-lo na mesma região do espaço, o fluxo se divide espontaneamente em dois, formando uma série de estruturas conhecidas como celas de Bénard, como ilustrado na figura (1.5).

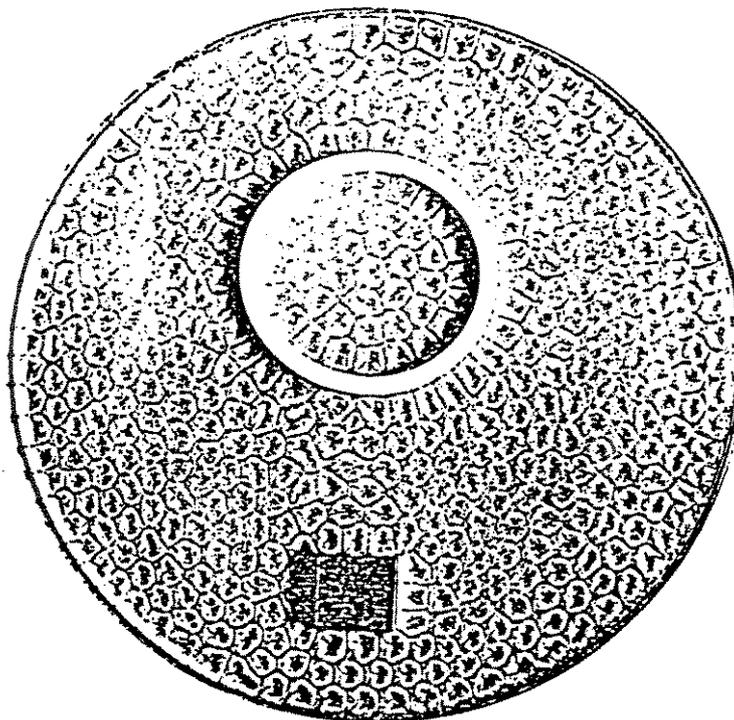


Figura 1.5: Celas de Bénard (vista superior).

Neste ponto o universo do nosso minúsculo observador foi totalmente transformado. Ele agora possui uma eficiente noção de espaço, devido ao aparecimento das estruturas. O aparecimento desta noção de espaço em sistemas originalmente isotrópicos é chamado de *quebra de simetria*<sup>18</sup>.

As estruturas observadas nos experimentos de Bénard nada tem a ver com as estruturas de equilíbrio da termodinâmica clássica pois as dimensões típicas das estruturas de equilíbrio são da ordem de  $10^{-8}$  cm (a distância entre átomos em um cristal), ao passo que para estruturas dissipativas tais dimensões são macroscópicas, da ordem de centímetros. Assim, as estruturas que surgem no experimento de Bénard são um excelente exemplo de estruturas dissipativas.

É importante notar que o princípio de Boltzmann mostra probabilidade quase zero para a ocorrência das celas de Bénard<sup>19</sup>, pois aproximadamente  $10^{21}$  moléculas devem se mover de modo organizado para formá-las. Entretanto, elas se formam experimentalmente.

Assim, o estado estacionário que precede a formação das celas convectivas tornar-se instável quando se atinge o número de Rayleigh crítico e através de uma flutuação o sistema é levado para um novo estado estacionário, estável (apêndice A), no qual as celas de Bénard se formam. Esta nova ordem que surge, corresponde basicamente a uma flutuação macroscópica estabilizada pelas trocas de energia do sistema com o ambiente. Por isso a ordem observada em estruturas dissipativas é muitas vezes chamada de *ordem através de flutuações ou ordem dinâmica*.

Ainda que a formação das celas de Bénard ocorra em sistemas longe do equilíbrio termodinâmico, este parece ser um fenômeno previsível pois as celas se formam quando o número de Rayleigh crítico é atingido. Contudo, uma vez atingido o número crítico as celas aparecerão porém o sentido de sua rotação, horário ou anti-horário (apêndice A), será imprevisível e incontrolável<sup>21, 22</sup>.

## **1.2.2 Formação de estruturas dissipativas devido a reações químicas**

Há muito tempo se conhece o fato de que algumas reações químicas ocorrendo longe do equilíbrio termodinâmico podem, sob certas

circunstâncias apresentar fenômenos de auto-organização, gerando padrões espaciais e/ou temporais. Um exemplo clássico é a reação de Belousov-Zhabotinskii. Esta reação consiste basicamente na oxidação do ácido cítrico por bromato, usando cério(III) como catalisador. Se esta reação for feita em um vaso sem agitação poderá haver a formação de um padrão espacial organizado, como está ilustrado na figura (1.6).

A estrutura final é estável por aproximadamente trinta segundos, desfazendo-se à medida que o sistema se aproxima do equilíbrio.

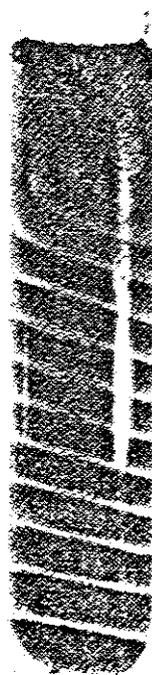


Figura 1.6: Padrão gerado na reação de Belousov-Zhabotinskii em um tubo de ensaio sem agitação.

Para discutir a formação de estruturas dissipativas devido a reações químicas, optaremos pela descrição macroscópica<sup>20</sup>. Considere uma mistura reagente de  $n$  espécies. O sistema é aberto, isto é, sujeito ao fluxo de reagentes que são convertidos, no volume de reação, aos intermediários  $X_1, X_2, \dots, X_n$  como está ilustrado na figura (1.7). Por simplicidade admitiremos que o sistema é isotérmico, está em equilíbrio e que suas condições de contorno são independentes do tempo. Também consideramos que a difusão no sistema é regida pela segunda lei de Fick e que a matriz dos coeficientes de difusão é diagonal, isto é, não há acoplamento. É claro que

estas condições podem ser relaxadas, porém o aumento na complexidade matemática resultaria em perda na compreensão do fenômeno, o qual nos parece ser o mais importante.

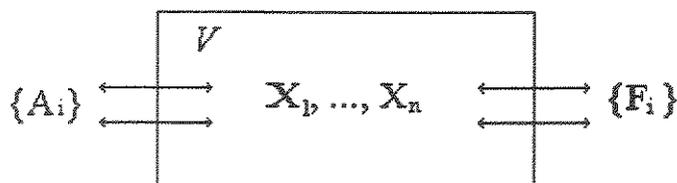


Figura 1.7: Sistema aberto sujeito a fluxos de componentes químicos de entrada e de saída  $\{A_i\}$  e  $\{F_i\}$ , respectivamente, contendo  $n$  intermediários  $X_1, \dots, X_n$  no volume de reação  $V$ .

O estado estacionário do sistema será descrito pelas variáveis de composição  $x_i$ , por exemplo, a fração molar.

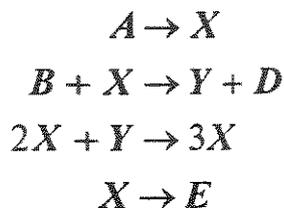
A evolução no tempo de tais sistemas é descrita pela equação 1.24, a qual é simplesmente a equação de conservação da massa para sistemas sujeitos a difusão e reação das espécies químicas envolvidas.

$$\boxed{\frac{\partial x_i}{\partial t} = D_i \nabla^2 x_i + \nu_i [x_j]} \quad \text{eq.(1.24)}$$

O termo  $\nu_i [x_j]$  da equação 1.24, chamado de termo fonte, descreve o efeito de reações químicas na concentração das espécies envolvidas; o termo  $D_i \nabla^2 x_i$  é chamado de termo dispersivo e representa o efeito da difusão na concentração das espécies químicas envolvidas; e  $D_i$  é o coeficiente de difusão de uma espécie química.

Em geral os termos  $\nu_i [x_j]$  são funções não-lineares dos termos de composição  $x_j$  e, portanto, a equação 1.24 é uma equação diferencial parcial não-linear. Equações deste tipo não possuem, em geral, solução analítica e portanto ilustraremos o tipo de comportamento esperado de suas soluções no estudo de um modelo particular.

O modelo escolhido é um modelo trimolecular autocatalítico simples, desenvolvido por Prigogine e Nicolis<sup>23</sup>. Tal modelo é o *Brusselator*, cujas etapas cinéticas são:



Na figura 1.8 temos a representação esquemática do Brusselator:

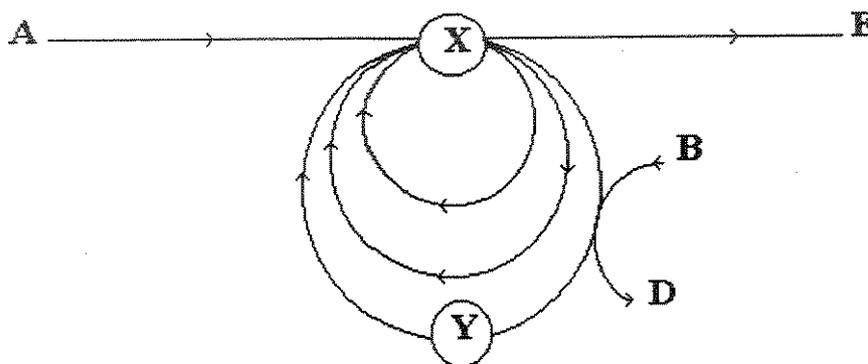


Figura 1.8: Modelo auto catalítico, Brusselator. Os círculos representam fluxos dos intermediários.

Os principais resultados da equação 1.24 aplicada ao Brusselator são:

1. No equilíbrio ou próximo dele, obtemos uma única solução a qual é estável a qualquer perturbação.
2. Suponha-se agora que o sistema é removido do equilíbrio. Para o modelo representado na figura 1.8, isto corresponde à remoção dos produtos D e E à medida em que são formados. Dadas condições de contorno independentes do tempo, a solução de estado estacionário obtida é geralmente chamada de

*ramo termodinâmico*. Um perfil típico das concentrações dos intermediários, admitindo a difusão em uma dimensão, está ilustrado na figura 1.9.

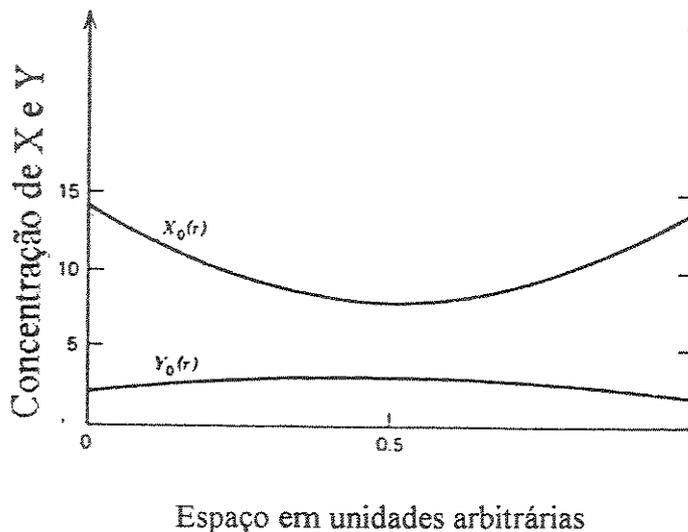


Figura 1.9: Solução de estado estacionário para o Brusselator.

Uma diferença entre este estado estacionário e o estado de equilíbrio é que o estado estacionário não é necessariamente estável. Sendo instável, este estado estacionário evoluirá após uma perturbação para um novo estado, o qual dependerá dos seguintes fatores:

- constantes de velocidade de reação
- coeficientes de difusão(D)
- comprimento do sistema(L)
- acoplamento difusivo  $\left(\frac{D}{L^2}\right)$ , este parâmetro fornece a intensidade do acoplamento entre regiões vizinhas.
- perturbação que atua no sistema

3. Quando o *ramo termodinâmico* se tornar instável, o sistema poderá evoluir para um novo estado estacionário o qual difere do apresentado na figura 1.9, pela *quebra da simetria espacial*. Uma solução numérica da equação 1.24 para o Brusselator, que representa este tipo de comportamento está apresentada na figura 1.10. Nesta podemos observar uma distribuição espacial periódica das espécies químicas envolvidas. Esta distribuição espacialmente organizada das espécies químicas é chamada de **estrutura dissipativa espacial**.

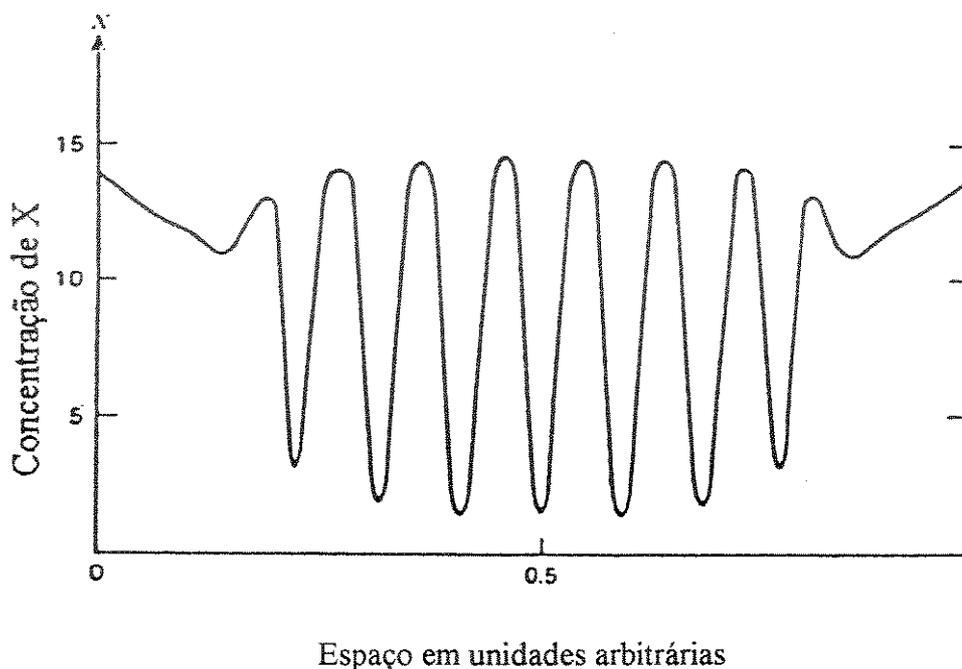


Figura 1.10: Estrutura dissipativa espacial obtida pela solução numérica da eq.(1.26) para o Brusselator.

Neste ponto o sistema químico em questão é muito semelhante ao sistema convectivo de Bénard, pois uma vez atingido um certo valor crítico o sistema evolui no tempo, com quebra da simetria espacial.

Para certos valores dos parâmetros anteriormente citados, a estrutura dissipativa formada pode ter a forma mostrada na figura 1.11, a qual apresenta uma interessante duplicação da estrutura dissipativa no volume de reação, isto é, a distribuição espacial das espécies químicas na metade superior do volume de reação é a imagem especular da distribuição das espécies químicas na metade inferior.

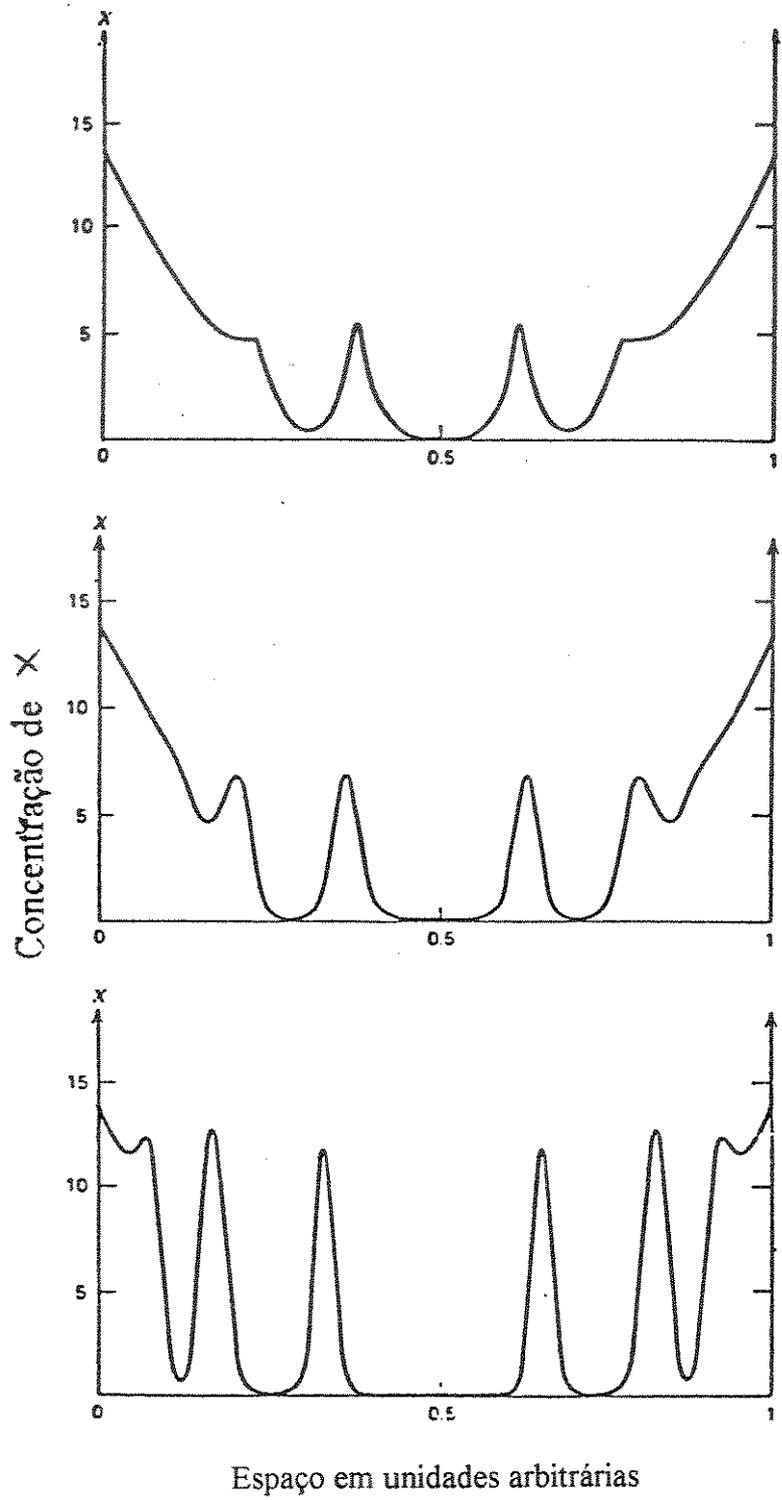


Figura 1.11: Duplicação de uma estrutura dissipativa espacial, relativa ao Brusselator.

4. Se o acoplamento difusivo entre regiões  $\left(\frac{D}{L^2}\right)$  for baixo (por exemplo, se o coeficiente de difusão for pequeno) o sistema instável poderá evoluir não mais para uma estrutura dissipativa espacial, isto é, para uma estrutura dissipativa na qual as concentrações das espécies químicas dependem apenas das coordenadas espaciais como nos casos anteriores, mas para uma estrutura **dissipativa espaço-temporal**. Em estruturas dissipativas espaço-temporais as concentrações das espécies químicas envolvidas variam periodicamente com tempo e com o espaço, semelhante a uma onda<sup>24</sup>.

Este comportamento periódico pode manifestar-se como um pulso viajante ou uma onda estacionária. Um exemplo do comportamento periódico tipo pulso viajante, referente ao brusselator, está apresentado nas figuras 1.12 e 1.13. No decorrer de um período há o aparecimento de uma zona de concentração, diferenciada, que se propaga no volume de reação até ser refletida nos limites deste.

Este tipo de estrutura dissipativa sugere um mecanismo primitivo de se transmitir informação por distâncias macroscópicas na forma de sinais químicos (provenientes, por exemplo do metabolismo celular).

5. Dependendo dos valores dos coeficientes de difusão e dos outros parâmetros, as estruturas dissipativas podem ser localizadas ou ocupar todo

volume de reação. Além disso, se todos  $\left(\frac{D_i}{L^2}\right)$  forem pequenos, comparados as velocidades das reações, a dependência espacial desaparece e as concentrações das espécies químicas oscilam na mesma fase em todo o volume de reação. A amplitude e o período das oscilações são determinados pelos parâmetros do próprio sistema independentemente das condições iniciais, isto é, o movimento periódico, representado no espaço de fase do sistema, é um *ciclo limite estável*<sup>25</sup>.

6. Dado que o acoplamento difusivo depende fortemente do tamanho do sistema, a mesma reação pode gerar uma estrutura dissipativa espacial, uma estrutura dissipativa temporal (ciclo limite) ou uma estrutura dissipativa espaço-temporal (ondas químicas), dependendo das dimensões do sistema.

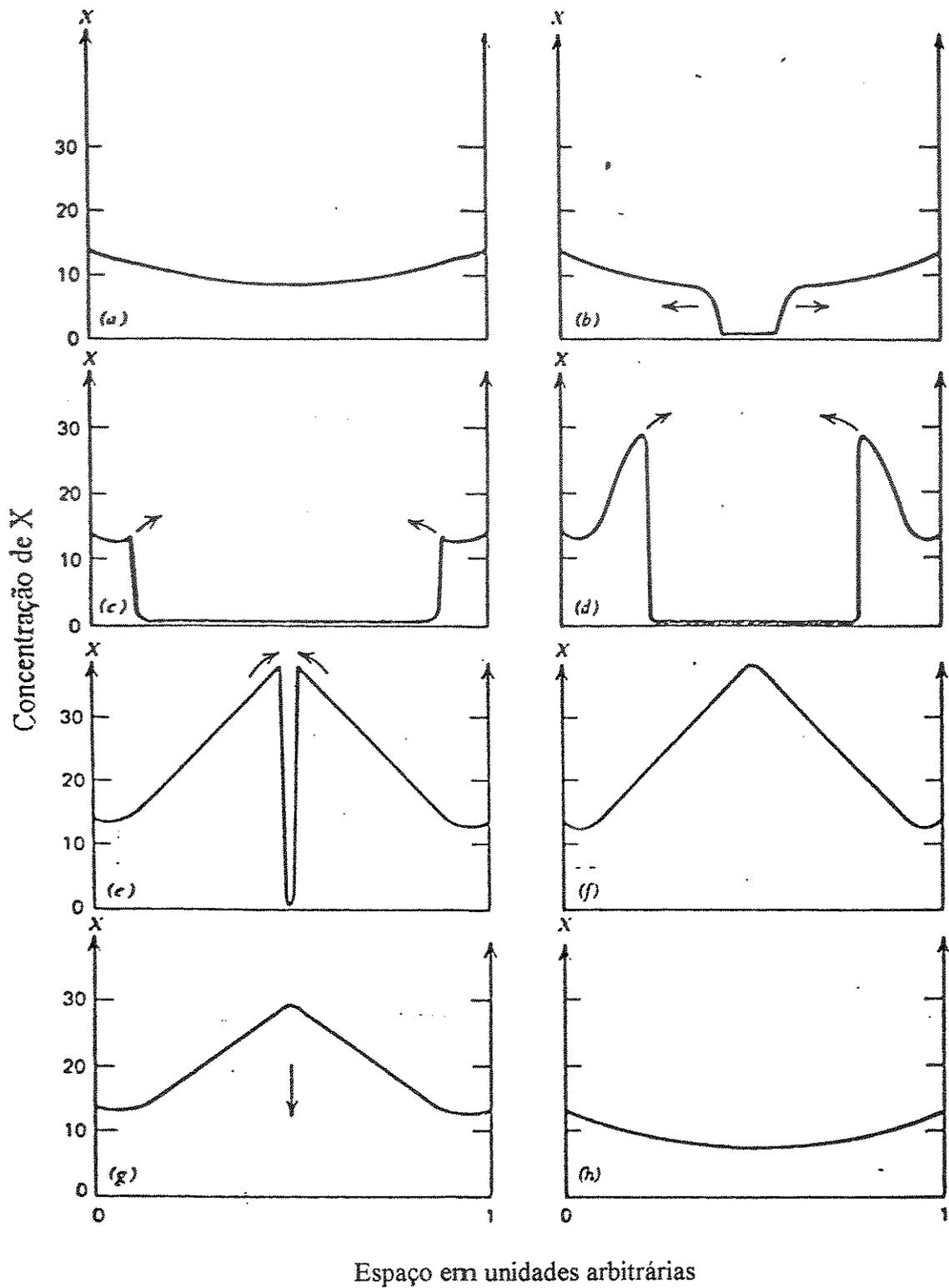


Figura 1.12: Passos característicos da evolução de  $X$  quando o Brusselator apresenta uma solução com comportamento do tipo pulso viajante (estrutura dissipativa espaço-temporal).

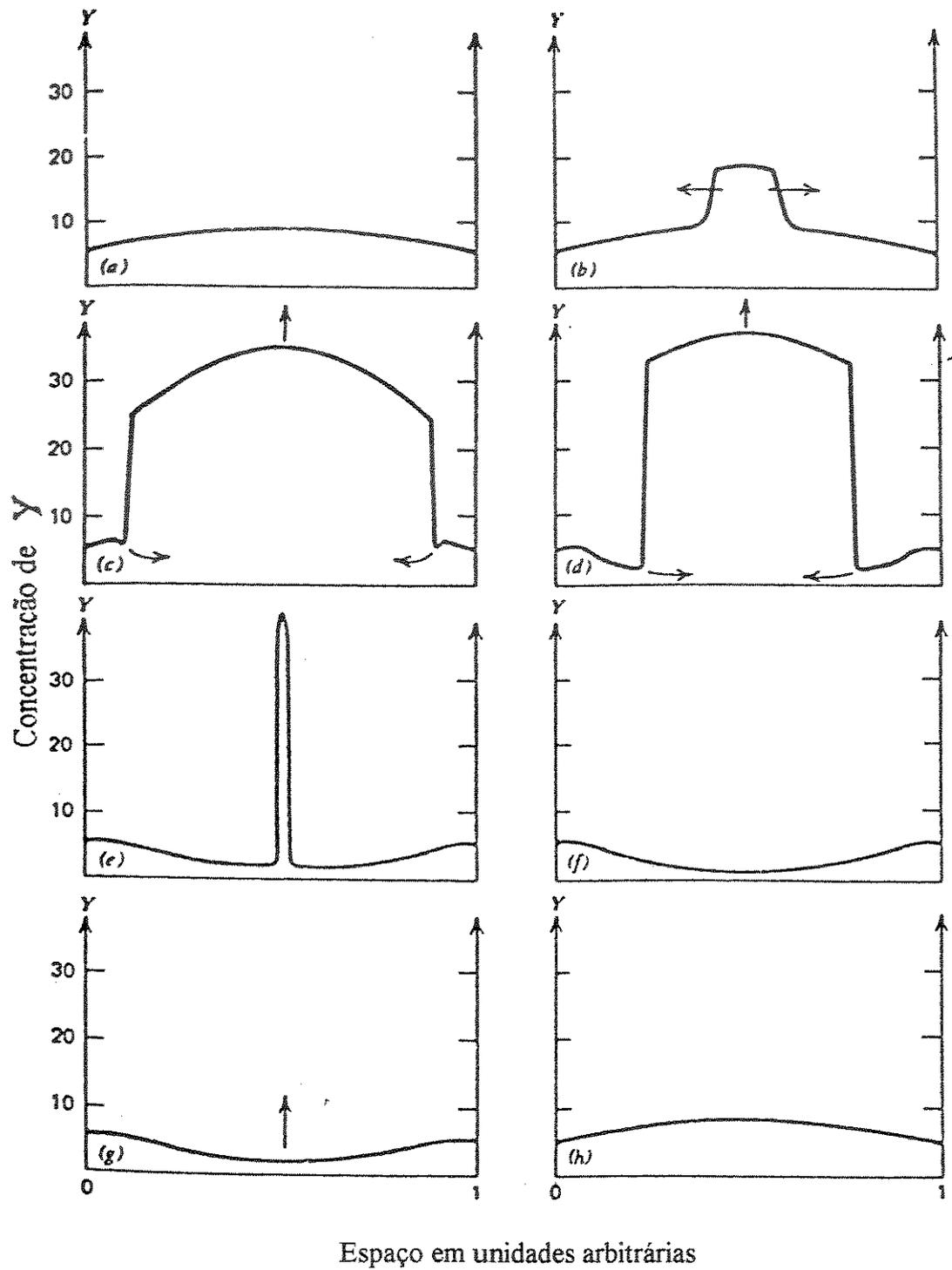


Figura 1.13: Passos característicos da evolução de Y quando o Brusselator apresenta uma solução com comportamento do tipo pulso viajante (estrutura dissipativa espaço-temporal).

### 1.3 Osmossedimentação

Se uma solução (mais densa que o solvente) é separada de seu solvente por uma membrana semipermeável, solvente pode fluir para a solução ou fluir da solução, dependendo da posição na coluna de líquido<sup>26,27</sup>, como está representado na figura 1.14.

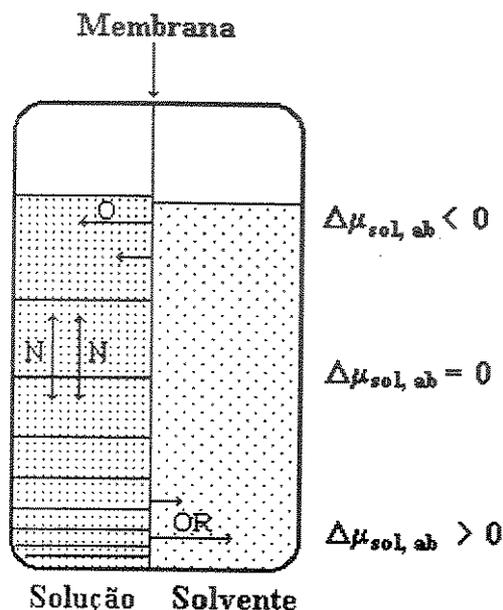


Figura 1.14: Representação dos fluxos envolvidos em osmossedimentação.

O fluxo de solvente por osmose para a solução é naturalmente esperado e ocorre devido ao gradiente de potencial químico através da membrana no topo da coluna de líquido. O fluxo de solvente para fora do compartimento da solução ocorre somente em pontos abaixo da superfície do líquido onde uma maior pressão hidrostática dentro da coluna de solução provoca osmose reversa.

O fluxo de solvente através da membrana é dado, dentro da aproximação linear, por:

$$J = -k \cdot \Delta\mu_{H_2O, AB} \quad \text{eq.(1.25)}$$

onde  $k$  é a permeabilidade da membrana ao solvente e  $\Delta\mu_{H_2O}$  é a diferença de potencial químico através da membrana<sup>25</sup>. Assim, se a coluna de líquido for suficientemente longa teremos:

1. *Osmose*, o solvente fluirá para o compartimento do solução em pontos onde  $\Delta\mu_{H_2O} < 0$ . Logo a solução no topo será diluída; essa diluição torna-se cada vez menor, à medida que nos aproximamos do centro da cela.

2. *Ponto de fluxo zero*, o fluxo de solvente será nulo quando  $\Delta\mu_{H_2O} = 0$ .

3. *Osmose reversa*, o solvente fluirá para fora do compartimento da solução em posições onde  $\Delta\mu_{H_2O} > 0$ . Neste caso, a partir do ponto de fluxo zero a solução ficará cada vez mais concentrada à medida que nos aproximamos do fundo da cela de osmossedimentação.

Além dos fatos anteriores, a sedimentação de soluto no compartimento da solução é acelerada pelo contato osmótico com o solvente na cela de osmossedimentação.

Utilizando-se o formalismo da termodinâmica dos processos irreversíveis linear é possível demonstrar que os coeficientes de sedimentação são ordens de grandeza maiores do que os coeficientes de sedimentação em sistemas sem o acoplamento osmótico<sup>7</sup>. É possível a seguinte expressão para o coeficiente de sedimentação em sistemas com acoplamento osmótico ( $S_{ap}$ ):

$$S_{ap} = S + L^{os} \frac{A_{ac}}{A_{bc}} \frac{-\Delta\rho}{v_0 C_1} (r_b - r_a) \quad \text{eq.(1.28)}$$

Onde

$S$  = Coeficiente de sedimentação sem acoplamento osmótico.

$L^{os}$  = permeabilidade

$\frac{A_{ac}}{A_{ab}}$  = razão entre a área da membrana e a secção reta da cela.

$v_0$  = volume parcial molar do solvente.

$\Delta\rho$  = diferença de densidade entre a solução e o solvente.

$\bar{C}_1$  = concentração média do solvente na solução.

$(r_b - r_a)$  = distância entre o topo e o fundo da cela.

Nos gráficos abaixo temos a razão  $S_{ap}/S$  em função da concentração média do soluto na solução, tamanho da cela e tamanho das partículas do soluto.

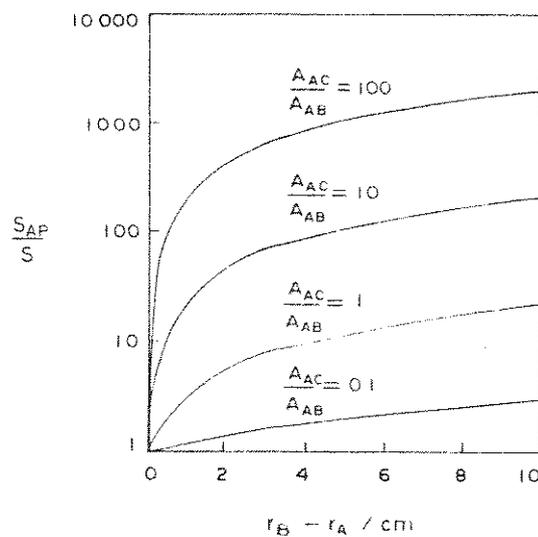


Figura 1.15:  $S_{ap}/S$  em função da altura da cela, para diferentes  $A_{ac}/A_{ab}$ . (solução de albumina  $\Delta\rho = 0,01 \text{ g cm}^{-3}$  e  $L^{OS} = 2 \cdot 10^{-11} \text{ s} \cdot \text{mol} \cdot \text{cm}^{-4}$ ).

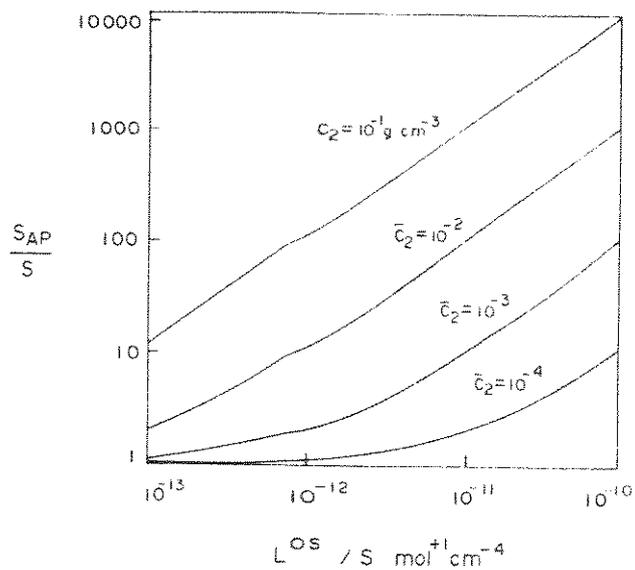


Figura 1.16:  $S_{ap}/S$  em função de  $L^{OS}$  para solução de albumina de diferentes concentrações médias ( $A_{ac}/A_{ab}=10$  e  $(r_b - r_a)=10 \text{ cm}$ )

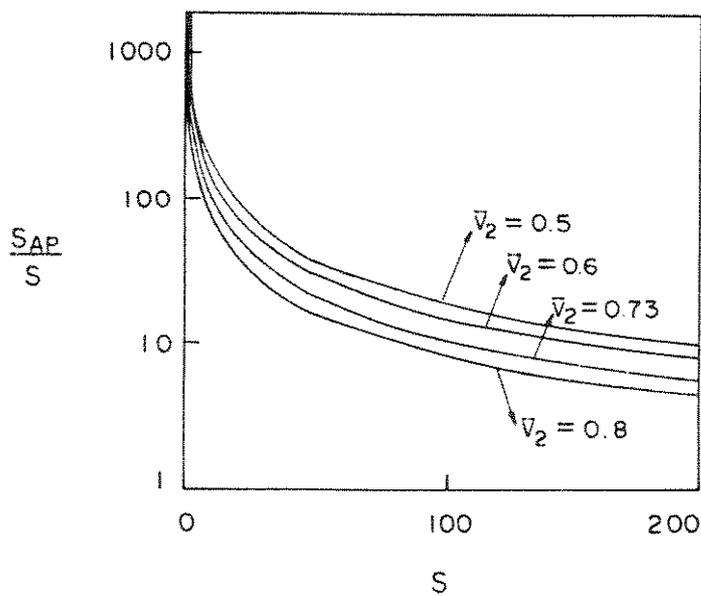


Figura 1.17:  $S_{ap}/S$  como função de  $S$  para partículas de diferentes tamanhos, solução de albumina de  $\Delta\rho = 0,01 \text{ g cm}^{-3}$  e  $L^{OS} = 2 \cdot 10^{-11} \text{ s} \cdot \text{mol} \cdot \text{cm}^{-4}$ ,  $S$  em Svedeberg.

A partir da equação 1.26 e dos gráficos acima podemos concluir que a transferência de massa em processos de osmossedimentação torna-se muito mais rápida do que nos processos de sedimentação convencionais, nos seguintes casos:

- membranas de maior permeabilidade
- soluções mais concentradas
- celas mais altas e mais finas

### 1.4 Sedimentação em gradiente de densidade

Quando uma dispersão é submetida a um campo centrífugo, as partículas sofrem um dos três efeitos<sup>29</sup>.

1. *Sedimentação*: as partículas mais densas do que o meio, afastam-se do eixo de rotação.
2. *Flutuação*: as partículas menos densas do que o meio aproximam-se do eixo de rotação.
3. *Equilíbrio isopícnico*: as partículas com a mesma densidade do meio permanecem estacionárias em relação ao eixo de rotação

A velocidade de sedimentação de uma partícula esférica em um campo centrífugo é descrita pela equação<sup>30</sup> 1.27.

$$V = \frac{d^2(\rho_p - \rho_m)\omega^2 r}{18\eta} \quad \text{eq.(1.27)}$$

onde

d = diâmetro da partícula

$\rho_p$  = densidade da partícula

$\rho_m$  = densidade do meio

$\eta$  = viscosidade do meio

$\omega$  = velocidade angular

$r$  = distância do eixo do rotor a um ponto qualquer na dispersão

A velocidade de sedimentação das partículas cresce com a segunda potência de seu diâmetro e da velocidade angular, e linearmente com a diferença de densidade entre a partícula e o meio. Diminui com o aumento da viscosidade do meio.

Estes efeitos podem ser utilizados para separação, fracionamento e análise do diâmetro e densidade das partículas de uma dispersão<sup>31, 32</sup>.

Um dos métodos de centrifugação analítica mais utilizados é a centrifugação zonal. Nesta, a dispersão é posta sobre um gradiente de densidade previamente gerado e levada à centrifugação. Durante a centrifugação, partículas diferentes sedimentam com velocidades diferentes formando zonas que são estabilizadas pelo meio, separando os componentes da dispersão. Em tempos longos a amostra se acumula totalmente no fundo do tubo. Através de medidas de velocidade de sedimentação das zonas pode-se obter os parâmetros de interesse para as partículas, isto é, tamanho, densidade, etc.

Quando o método anterior é executado em celas de osmossedimentação, utilizando gradientes de densidade auto-gerados (por osmossedimentação), ele recebe o nome de *osmocentrifugação zonal*<sup>33</sup>.

## **1.5 Formação de estruturas dissipativas em experimentos de osmocentrifugação zonal.**

Neste trabalho é descrito um novo tipo de estruturas dissipativas, observadas em trabalho anterior deste laboratório<sup>34</sup>, formadas em experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de

dextrana azul em gradiente de densidade. Nestes experimentos foi observado a formação de várias estrias proximas à base da cela de osmosedimentação, gerando um padrão espacial organizado, como está apresentado na figura (1.18).

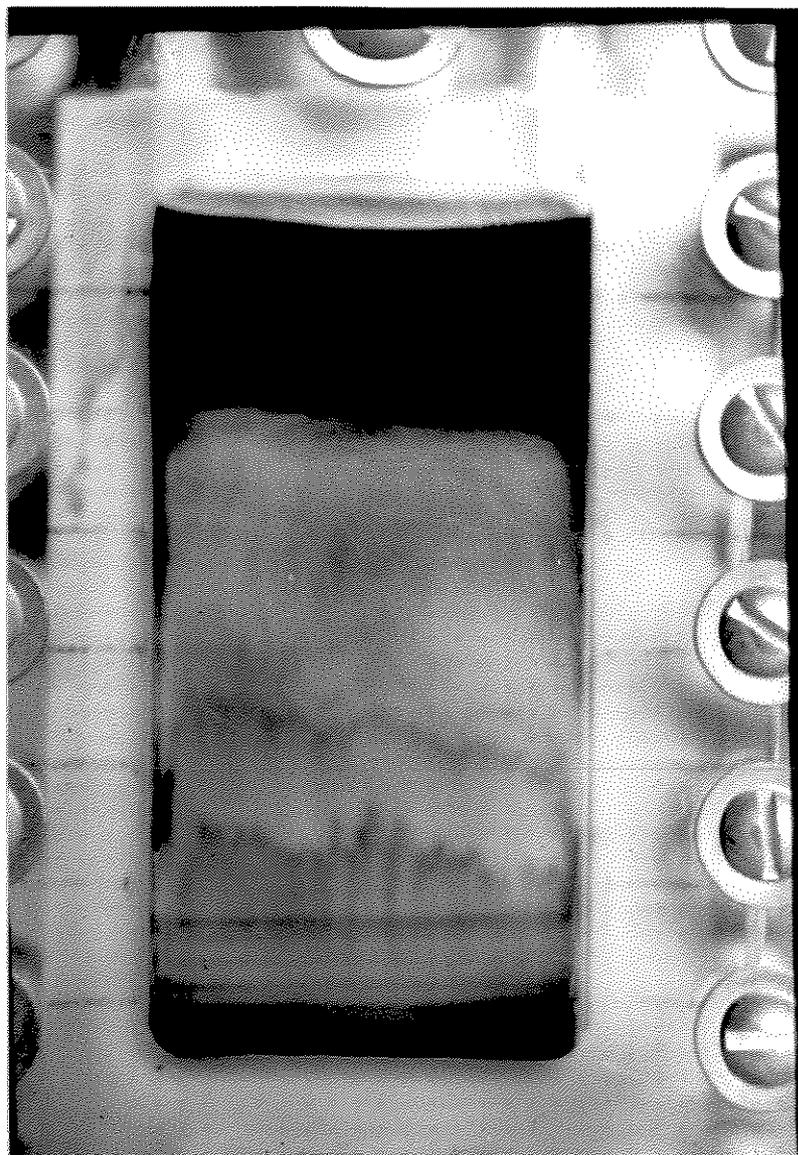


Figura 1.18: estrutura dissipativa formada em experimento de osmocentrifugação zonal de uma solução concentrada de dextrana azul.

## **2. Objetivo**

Determinar experimentalmente e modelar teóricamente as condições de formação de estruturas dissipativas em experimentos de osmocentrifugação zonal.

### **3. Parte experimental e Resultados**

#### **3.1 Materiais**

##### **3.1.1 Reagentes**

- Ficoll, Pharmacia fine chemicals(lote 01428, code-170400-01)
- Sacarose P.A., Reagem
- Dextrana azul T-2000, Pharmacia fine chemicals(lote 01429, code-0220-03)
- Acetona P.A., Merck
- Ácido acético glacial, Synth
- Acetato de celulose comercial, Rhodia
- Cloreto de sódio P.A., Merck
- Polivinilpirrolidona corada com iodo, Basf
- Pentóxido de fósforo, Carlo Erba
- Kit completo do processo E-6 para revelação de slides(diapositivos coloridos), Kodak
- Placas de vidro(20x30cm)

##### **3.1.2 Equipamentos**

- Centrífuga refrigerada de caçapas basculantes, RC-3B Sorvall Instruments
- Densímetro PAAR-DMA 60/602
- Máquina semi-automática para fabricação de membranas
- Câmara fotográfica, Miranda SLR
- Balança analítica, Mettler mod.H54AR
- Celas de osmossedimentação

## 3.2 Métodos

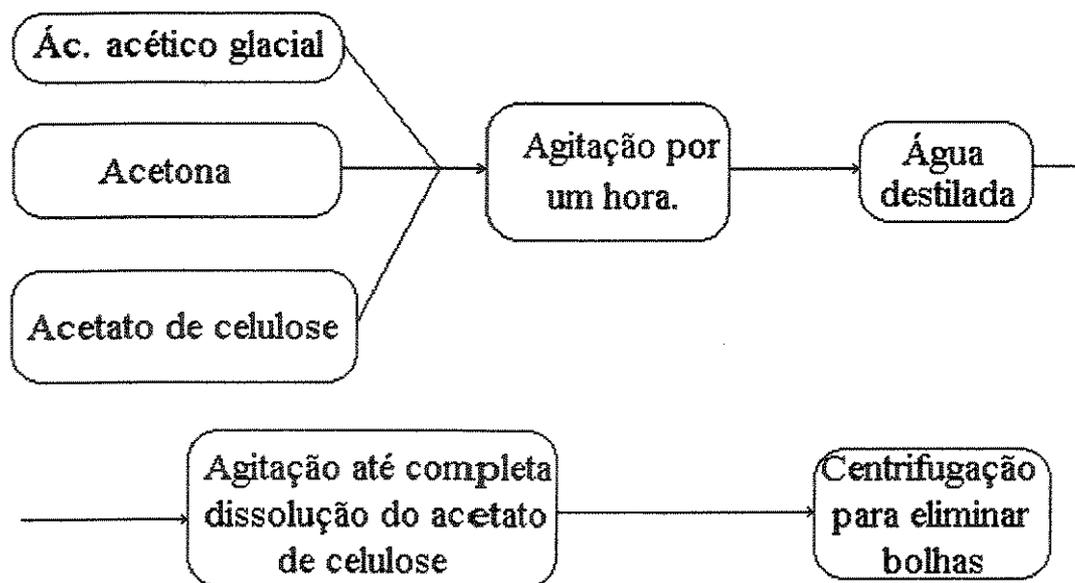
### 3.2.1 Preparação das membranas assimétricas de acetato de celulose

As membranas utilizadas em nossos experimentos foram preparadas a partir da solução A.

Solução A:

11% (m/m) de acetato de celulose  
23% (m/m) de água destilada  
43% (m/m) de acetona  
23% (m/m) de ácido acético glacial

O método de preparação da solução anterior, estabelecido há vários anos neste laboratório<sup>35</sup>, está representado no diagrama de blocos abaixo:



Para se obter as membranas assimétricas de acetato de celulose, foi utilizada a máquina semi-automática<sup>36</sup>, ilustrada na figura 3.1.

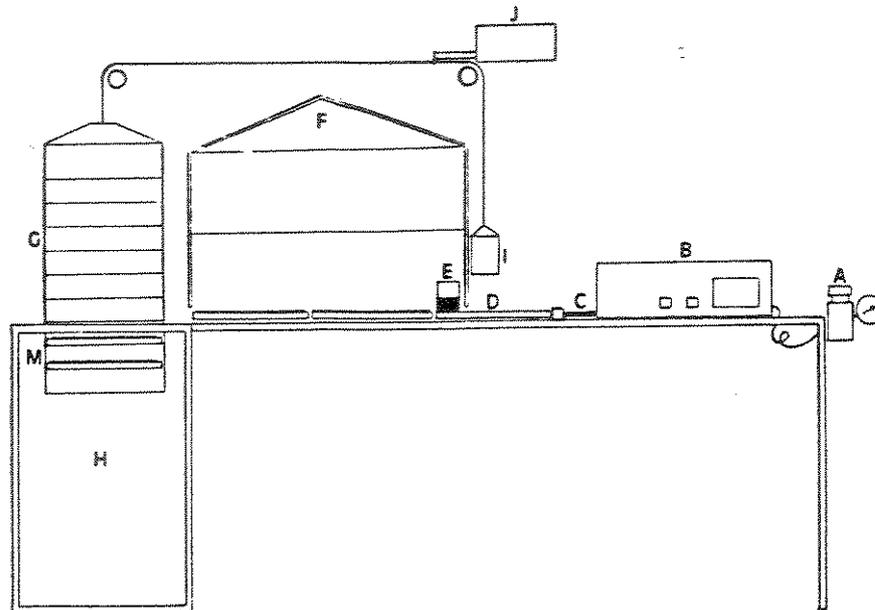


Figura 3.1: Vista frontal da máquina semi-automática utilizada para fabricação de membranas.

Nesta máquina um êmbolo hidráulico movimenta as placas de vidro(20x30) colocadas manualmente na posição **D**. A cada movimento do êmbolo, a placa é deslocada trinta centímetros da sua posição inicial. Em seu movimento a placa passa sob o espalhador **E**, preenchido com a solução **A**, o qual possui um desnível na base que corresponde à espessura(400  $\mu\text{m}$ ) da camada de solução a ser espalhada sobre a superfície da placa de vidro. No movimento seguinte a placa é deslocada para a capela onde permanece por seis minutos. Na última etapa de funcionamento da máquina a placa é deslocada para a grade **G**, sendo em seguida(após três minutos) mergulhada no tanque de água destilada **H**. Neste estágio a solução sobre a placa coagula dando origem à membrana. Um lote de 10 membranas é obtido rapidamente e com grande reprodutibilidade, repetindo-se o processo até que toda a grade **G** esteja preenchida com as placas e mergulhada no tanque **H**.

As membranas recém preparadas são removidas das placas de vidro e conservadas em água destilada com pequena quantidade de Timerosal(para evitar o eventual desenvolvimento de fungos) e sob refrigeração. Assim conservadas as membranas podem durar até três meses.

### 3.2.2 Determinação do volume parcial específico da dextrana azul T-2000

O volume parcial específico de um soluto, numa solução binária é definido como a derivada parcial do volume da solução com relação à massa do soluto, mantendo-se constantes a temperatura, pressão e a massa do solvente.

O volume de uma solução binária pode ser escrito como:

$$V = n_1 v_1 + m_2 v_2$$

onde  $v_1$  é o volume parcial molar do solvente,  $v_2$  é o volume parcial específico do soluto e  $m_2$  é a massa do soluto. Assim, se colocarmos em um gráfico o volume total de uma solução em função da massa de soluto adicionada, podemos determinar o volume parcial específico deste soluto através do coeficiente angular do gráfico obtido.

O procedimento utilizado para a determinação do volume total da solução de dextrana azul em função da massa de dextrana azul adicionada foi o seguinte: uma massa de aproximadamente 3g de dextrana azul foi deixada em um dessecador a vácuo sob pentóxido de fósforo até peso constante. Desta massa de dextrana azul foram preparadas seis soluções, mantendo a massa de água constante( cerca de 5g) e aumentando-se gradualmente a massa de dextrana azul adicionada. Em seguida a densidade de cada uma das soluções preparadas foi medida com o densímetro PAAR 60/603. Uma vez conhecida a massa e a densidade das soluções foi possível calcular seus respectivos volumes.

Em seguida a massa de dextrana azul foi corrigida<sup>37</sup> para a massa constante de 5,0000g de água. Tal correção é feita para que todos os

aumentos de volume devido a adição de dextrana azul sejam relativos à mesma massa de água. O volume total corrigido e a massa corrigida de dextrana azul adicionada, estão apresentados na tabela (3.1).

Tabela 3.1: Valores das massas de dextrana azul e volumes da solução corrigidos, usados para determinação do volume parcial específico da dextrana azul

Massa corrigida de dextrana azul (g)	Volume total corrigido(ml)
0,01377	5,01905
0,02013	5,02244
0,07074	5,05600
0,11580	5,08551
0,21466	5,15459
0,32697	5,22554

Com os dados da tabela 3.1 traçamos o gráfico da figura 3.2. Neste gráfico, temos o volume total em função da massa de dextrana adicionada.

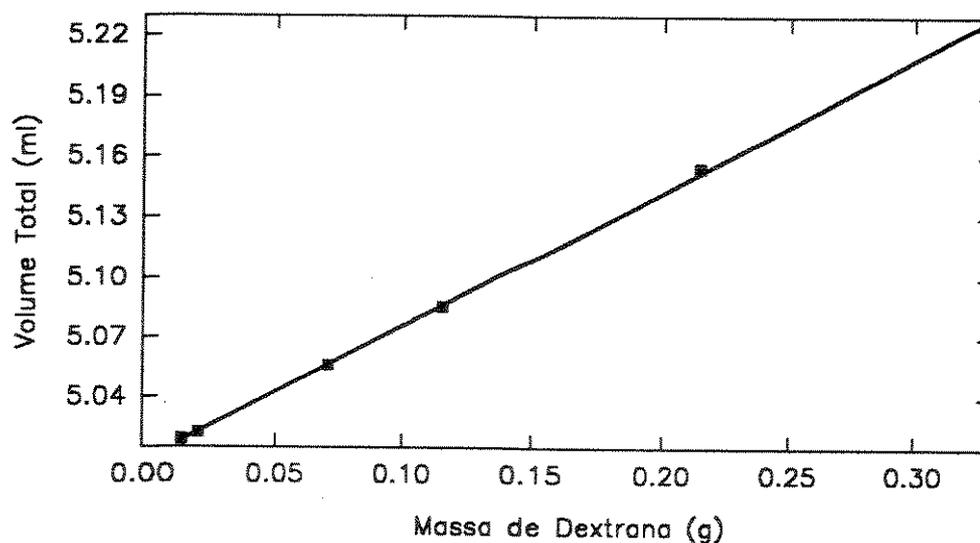


Figura 3.2: Volume total da solução em função da massa de dextrana azul adicionada.

Através do coeficiente angular do gráfico da figura 3.2 obtivemos o seguinte valor para o volume parcial específico da dextrana azul:

$$\nu = 0,664 \pm 0,001 \text{ (cm}^3 \text{ / g)}$$

### 3.2.3 Determinação do volume parcial específico da polivinilpirrolidona corada com iodo

O mesmo procedimento anterior foi utilizado para a determinação do volume parcial específico da polivinilpirrolidona corada com iodo. A partir dos dados apresentados na tabela 3.2 construímos o gráfico apresentado na figura 3.3, o qual representa o volume total da solução em função da massa de polivinilpirrolidona, corada com iodo, adicionada.

Tabela 3.2: Valores das massas de PVP-I<sub>2</sub> e volumes da solução corrigidos, usados para determinação do volume parcial específico da PVP-I<sub>2</sub>

Massa corrigida de PVP-I <sub>2</sub> (g)	Volume total corrigido(ml)
0,01489	5,02557
0,02201	5,03047
0,07335	5,06659
0,11590	5,09657
0,20243	5,15804
0,32065	5,24120

Através do coeficiente angular do gráfico apresentado na figura 3.3 obtivemos o seguinte valor para o volume parcial específico da polivinilpirrolidona corada com iodo:

$$\nu = 0,705 \pm 0,001 \text{ (g / cm}^3 \text{)}$$

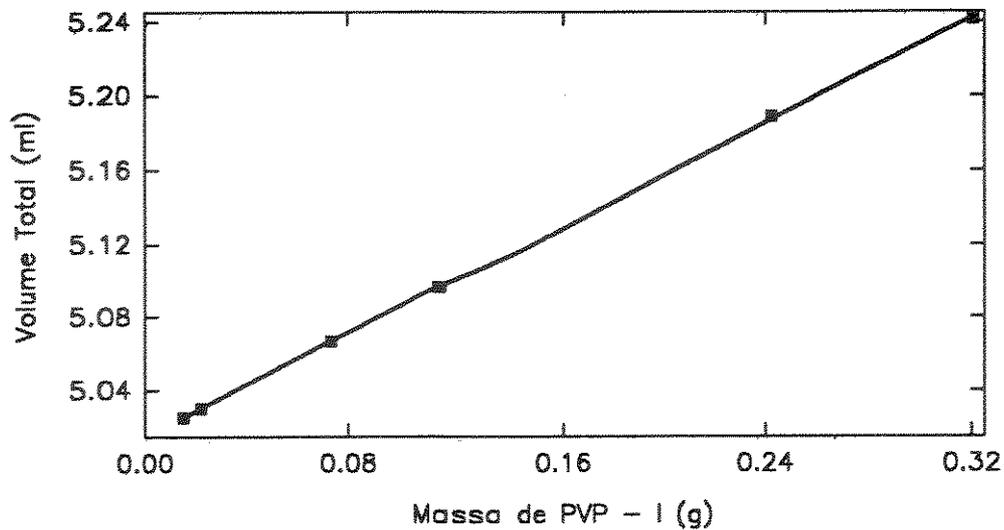


Figura 3.3: Volume de solução em função da massa de polivinilpirrolidona, corada com iodo.

### 3.2.4 Obtenção dos gradientes de densidade

A seguir descrevemos a obtenção dos gradientes de densidade que serão utilizados em experimentos de osmocentrifugação zonal posteriores.

Os gradientes de densidade foram obtidos por osmossedimentação, utilizando-se as membranas descritas na secção 3.2.1 e as celas de osmossedimentação da figura 3.4.

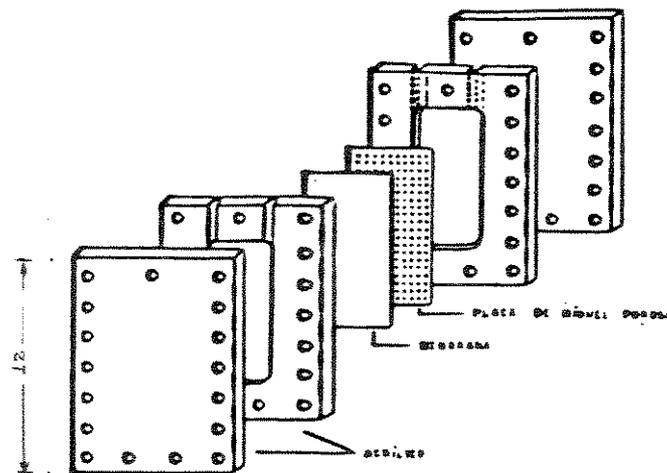


Figura 3.4: Vista explodida de uma cela de osmossedimentação

Em um dos compartimentos da cela foi colocado 11 ml da solução formadora do gradiente de densidade, cuja composição é seguinte:

11% (m/m) de Ficoll

19% (m/m) de sacarose

70% (m/m) de solução aquosa de NaCl 0,1M

e ao outro compartimento da cela foi adicionado o mesmo volume de solvente, de composição:

19% (m/m) de sacarose

81% (m/m) de solução aquosa de NaCl 0,1M

Na figura 3.5 temos a vista em perfil da cela de osmossedimentação carregada com estas duas soluções.

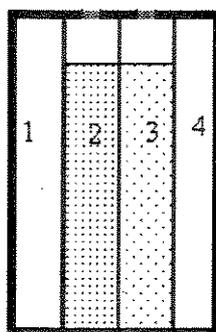


Figura 3.5: Vista em perfil de uma cela de osmossedimentação, carregada com as soluções formadoras do gradiente de densidade. 1 e 4 são as paredes de acrílico da cela, 2 é o compartimento do gradiente de densidade e 3 é o compartimento do solvente.

Em seguida a cela, já carregada com as soluções anteriores, foi levada à centrifugação a 3000 rpm e 25°C. Após três horas a centrifuga foi parada e a cela cuidadosamente removida. Deste modo obtém-se um gradiente de densidade no compartimento A da cela de osmossedimentação, com densidades crescentes do topo até o fundo da cela<sup>38</sup>. Para se conhecer a densidade em função da posição no gradiente de densidade recém obtido, colhemos alíquotas em diversas posições no gradiente de densidade, com o sistema ilustrado na figura 3.6, e medimos suas densidades com o densímetro PAAR DMA 60/602.

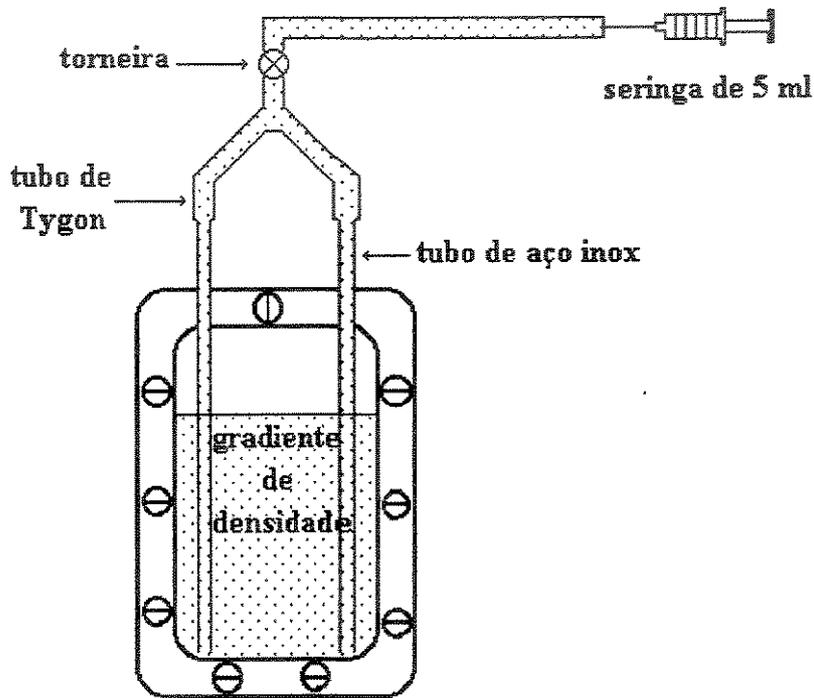


Figura 3.6: Arranjo experimental utilizado para a amostragem do gradiente de densidade.

Com os dados de densidade e posição na cela de osmossedimentação apresentados na tabela 3.3, foi traçado o gráfico do gradiente de densidade formado, ilustrado na figura 3.7

tabela 3.3: densidades das alíquotas colhidas pelo gradiente de densidade, gerado por osmossedimentação, em três experimentos.

Posição na cela (cm)	Experimento 1 densidade (g/cm <sup>3</sup> )	Experimento 2 densidade (g/cm <sup>3</sup> )	Experimento 3 densidade (g/cm <sup>3</sup> )
0	1,0999	1,1066	1,1040
1,2	1,1048	1,1086	1,1071
1,9	1,1093	1,1124	1,1112
2,5	1,1130	1,1159	1,1154
3,2	1,1158	1,1188	1,1183
3,8	1,1183	1,1212	1,1204
4,5	1,1206	1,1226	1,1223
5,4	1,1222	1,1244	1,1239
6,2	1,1246	1,1262	1,1259

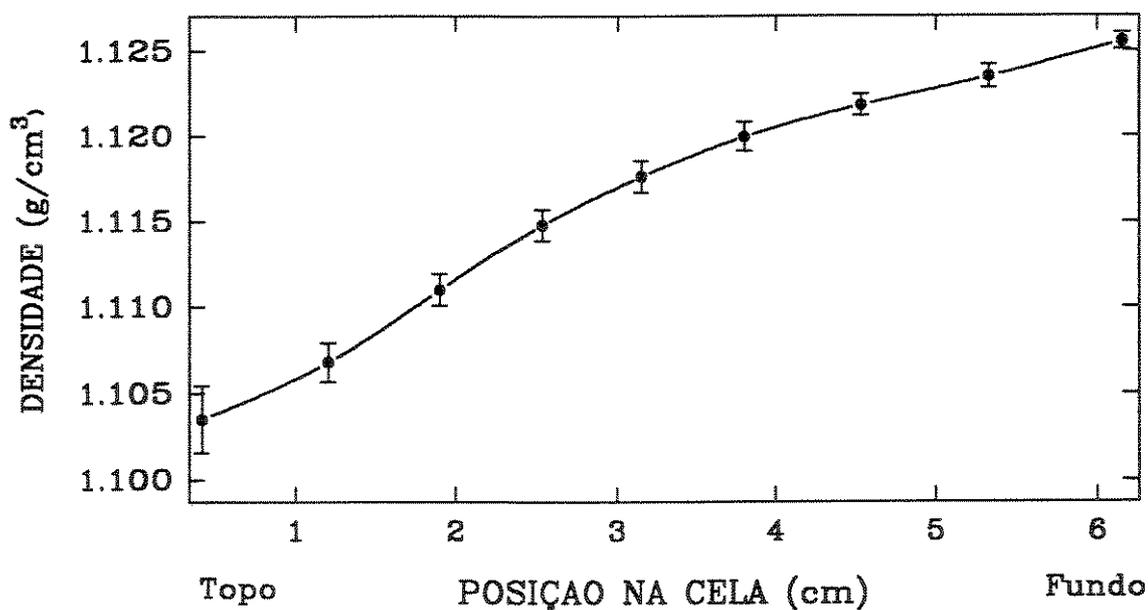


Figura 3.7: Perfil do gradiente de densidade obtido por osmossedimentação.

### 3.2.5 Osmocentrifugação zonal de soluções de dextrana azul

Uma vez obtido o gradiente de densidade descrito no item anterior o próximo passo foi colocar sobre o mesmo, com o auxílio de uma micro pipeta automática, uma alíquota ou zona de uma solução concentrada de dextrana azul. Em seguida a cela foi novamente levada à centrifugação. Em intervalos de 5, 10, 15, 30 e 60 minutos a centrífuga foi parada e a cela cuidadosamente removida, foi fotografada em filme para slide.

Com o objetivo de se obter um conjunto de experimentos no qual o espaço das variáveis fosse explorado de modo a fornecer o máximo de informações sobre o sistema, foi montado um plano fatorial<sup>39</sup>. As variáveis estudadas foram: a velocidade de rotação da centrífuga, o volume e a concentração da zona de dextrana azul foram exploradas em dois níveis, como apresentado na tabela 3.4.

tabela 3.4: variáveis estudadas e seus respectivos níveis

	Nível baixo	Nível alto
<b>Velocidade de rotação(rpm)</b>	<b>2000</b>	<b>4000</b>
<b>Volume da zona de dextrana azul(ml)</b>	<b>0,5</b>	<b>1,0</b>
<b>Concentração da zona de dextrana azul%(m/m)</b>	<b>5</b>	<b>10</b>

A combinação de variáveis e níveis resulta em um total de oito experimentos, os quais estão apresentados na tabela 3.5 .

As densidades das soluções de dextrana azul, utilizadas nos experimentos de osmocentrifugação zonal foram medidas medidas com densímetro PAAR - DMA 60/602 e os resultados obtidos estão apresentados na tabela 3.6.

Tabela 3.5: Relação dos experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções de dextrana azul

Experimento	Velocidade de rotação(rpm)	Volume da zona de azul de dextrana(ml)	Concentração da zona de azul de dextrana % (m/m)
1	2000	0,5	5
2	4000	1,0	10
3	2000	0,5	5
4	4000	1,0	10
5	2000	0,5	5
6	4000	1,0	10
7	2000	0,5	5
8	4000	1,0	10

Tabela 3.6: Densidades das soluções de dextrana azul utilizadas nos experimentos de osmocentrifugação

Concentração da zona de dextrana azul % (m/m)	Densidade da zona de dextrana azul (g/cm <sup>3</sup> )
0,5	1,017
1,0	1,036

Em alguns dos experimentos da tabela 3.5 observa-se, após cinco minutos de centrifugação, a formação de estrias próximas a base da cela de osmosedimentação que formam as estruturas dissipativas estudadas neste trabalho. Na seqüência de fotos abaixo apresentamos o resultado de cada um dos oito experimentos da tabela 3.5, após cinco minutos de centrifugação.

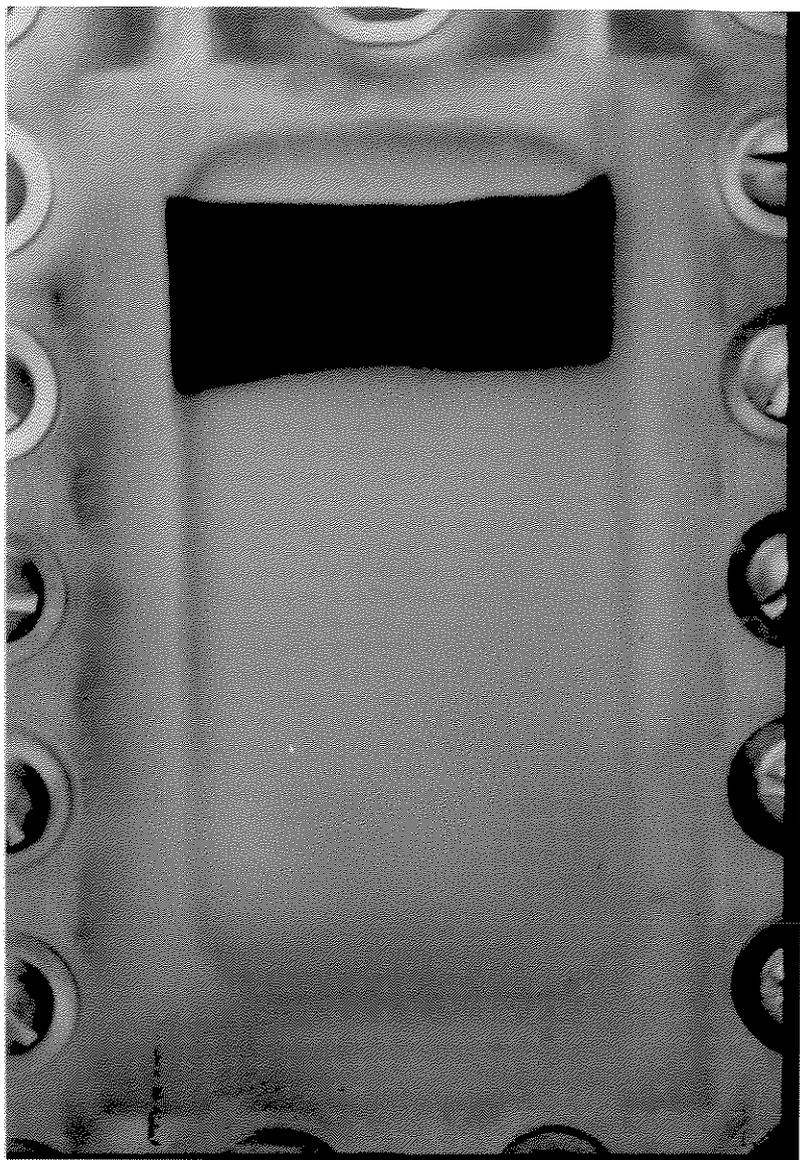


Figura 3.8: Foto da cela de osmossedimentação do experimento 1 após cinco minutos de centrifugação.

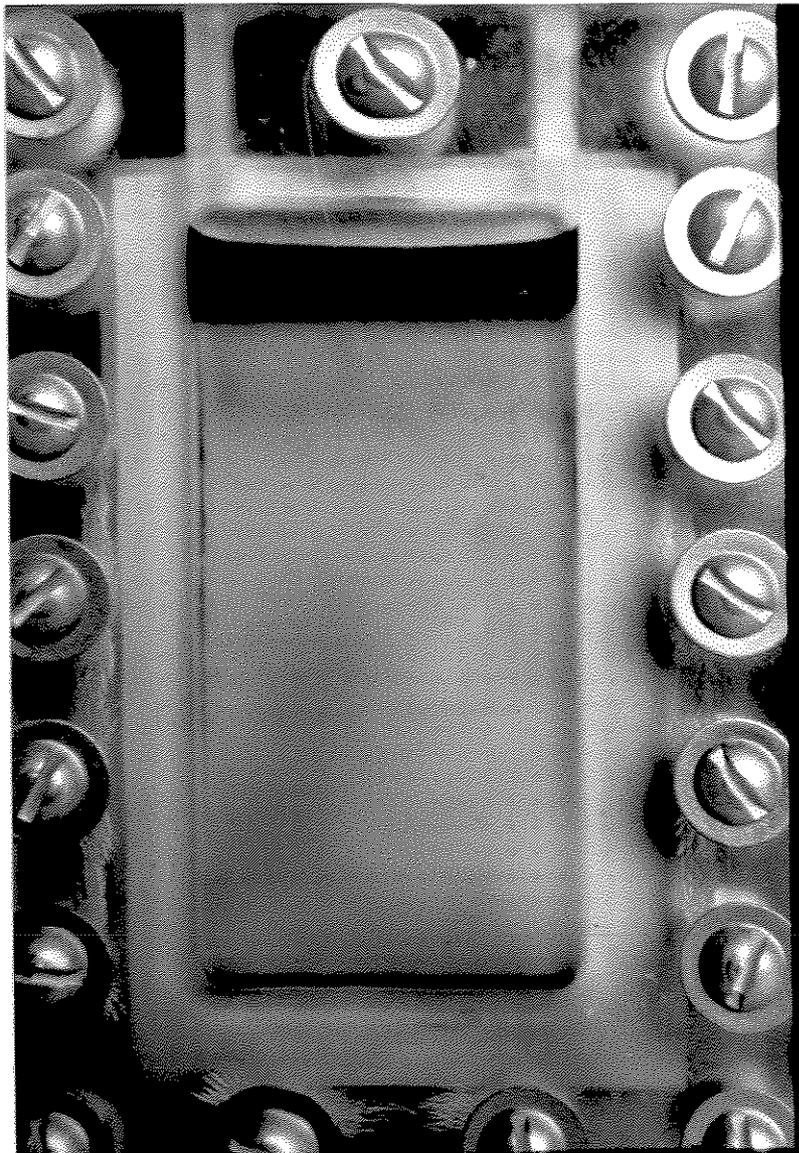


Figura 3.9: Foto da cela de osmossedimentação do experimento 2 após cinco minutos de centrifugação.

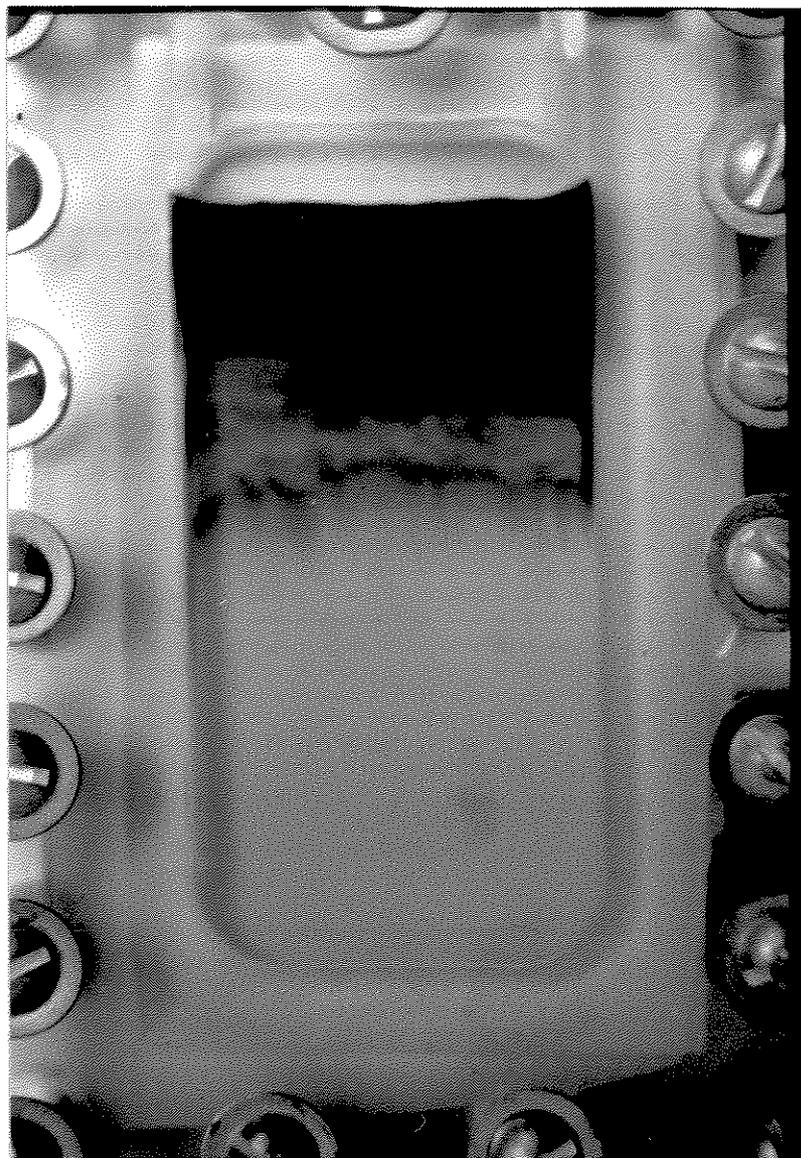


Figura 3.10: Foto da cela de osmossedimentação do experimento 3 após cinco minutos de centrifugação.

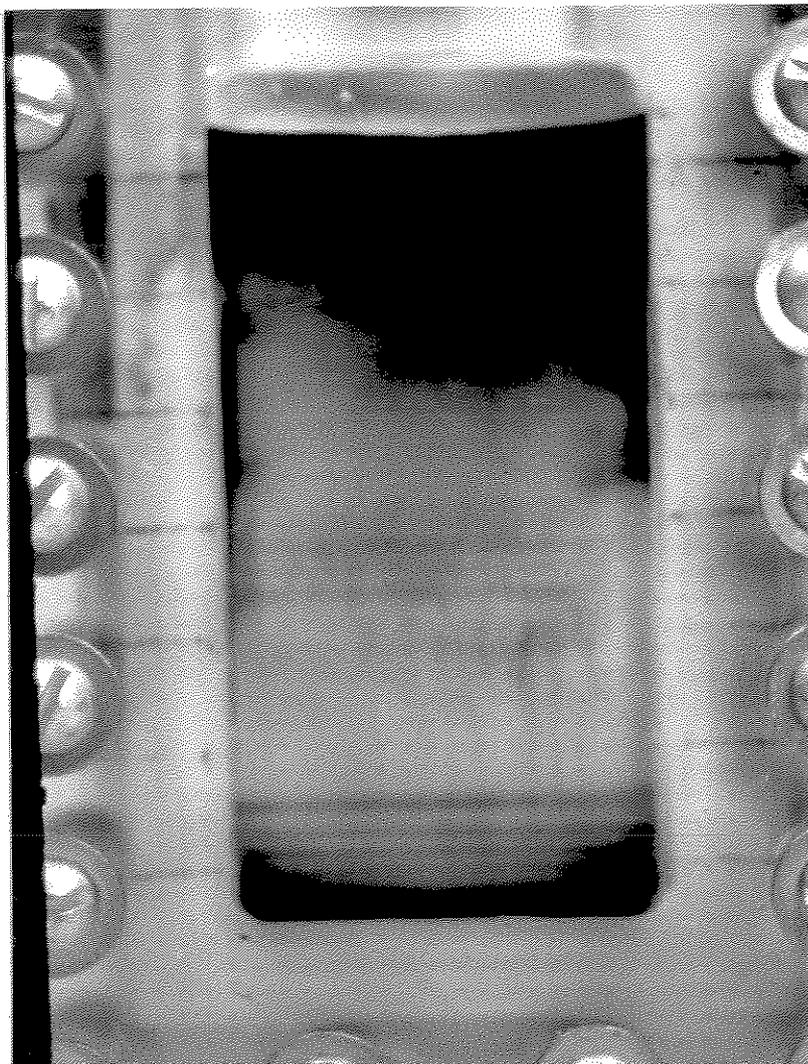


Figura 3.11: Foto da cela de osmossedimentação do experimento 4 após cinco minutos de centrifugação.

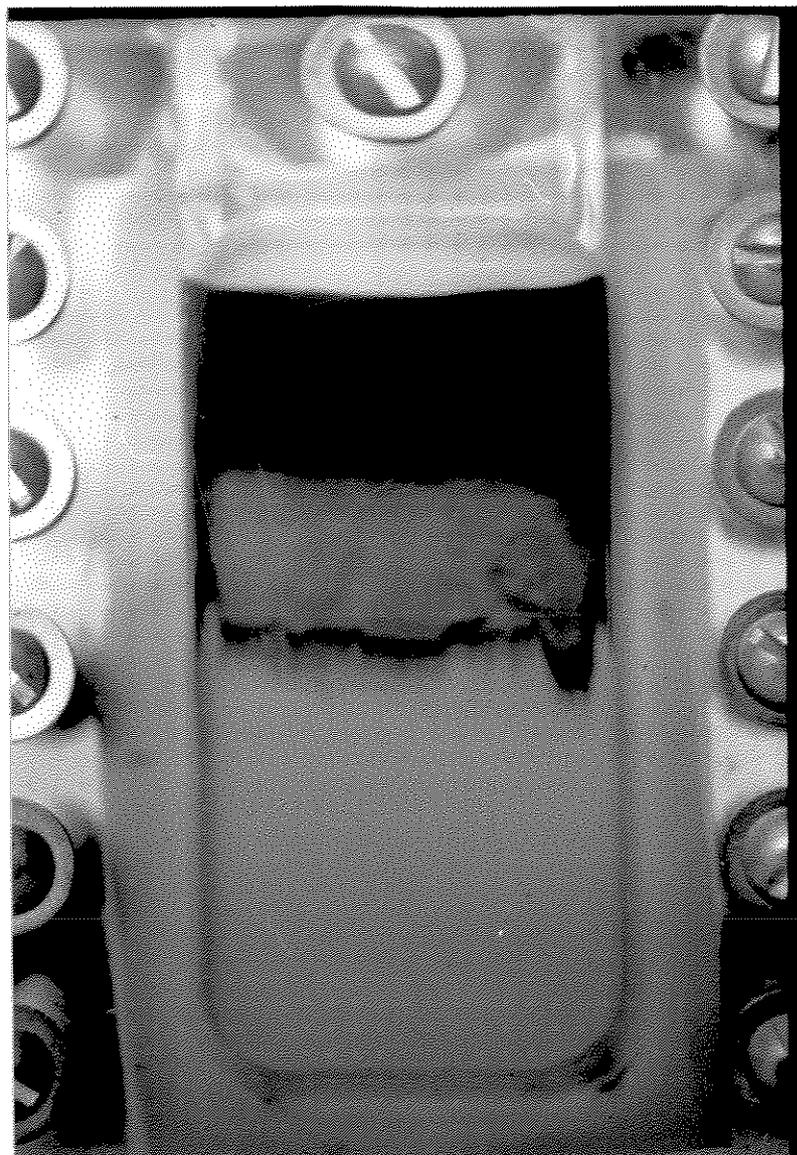


Figura 3.12: Foto da cela de osmossedimentação do experimento 5 após cinco minutos de centrifugação.

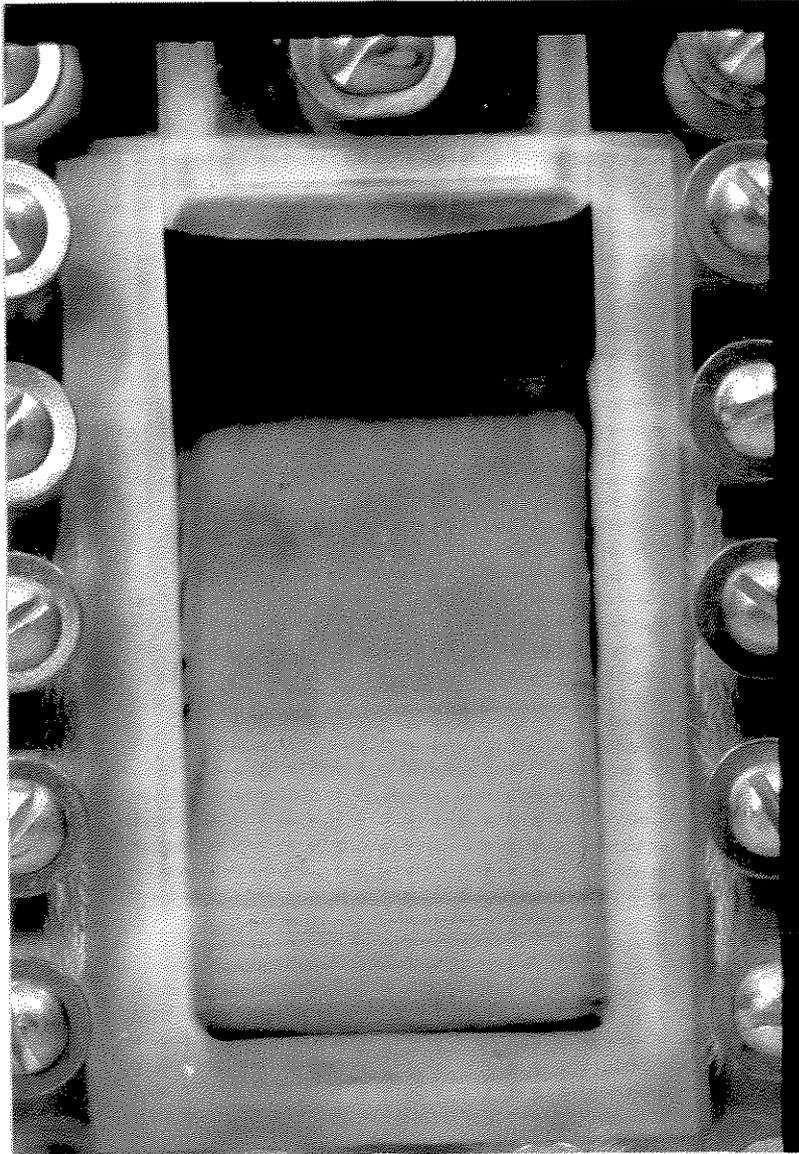


Figura 3.13: Foto da cela de osmossedimentação do experimento 6 após cinco minutos de centrifugação.



Figura 3.14: Foto da cela de osmossedimentação do experimento 7 após cinco minutos de centrifugação.

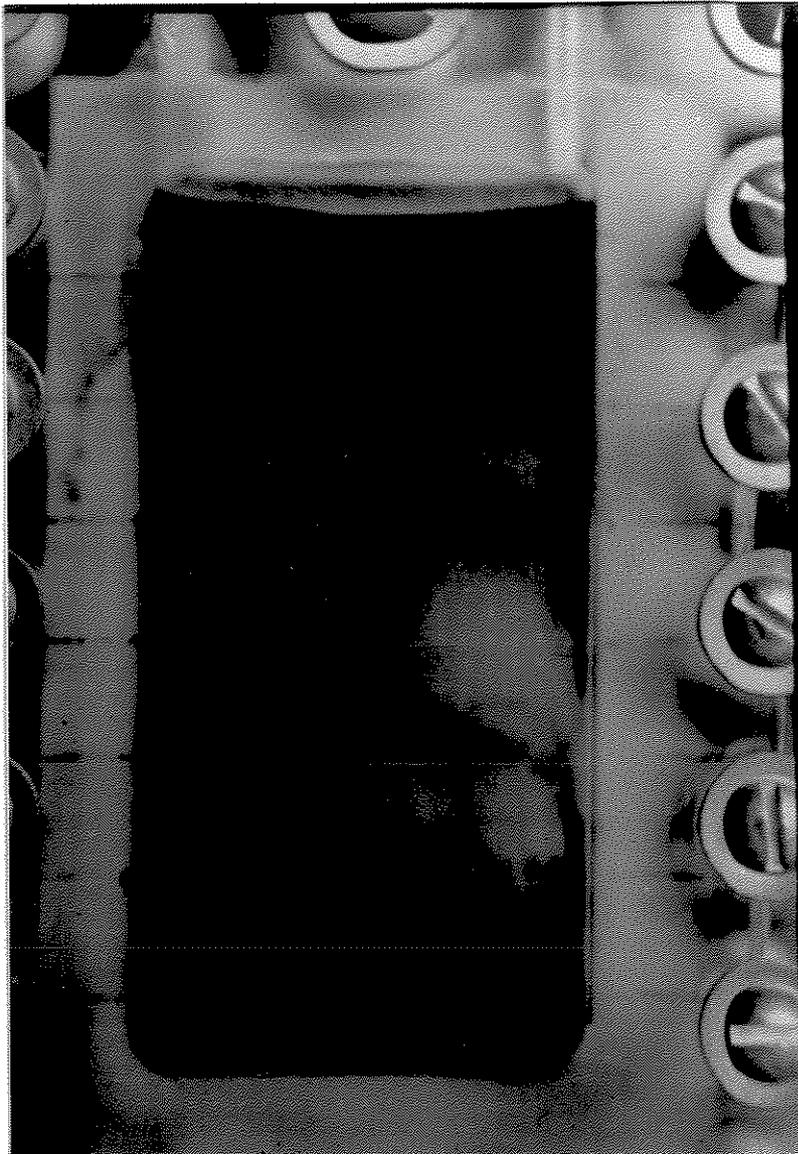


Figura 3.15: Foto da cela de osmossedimentação do experimento 8 após cinco minutos de centrifugação.

Na sequência de fotos anterior observamos que nos experimentos 2, 4, 6, 7 e 8 há a formação de uma série de linhas azuis na região próxima a base da cela de osmossedimentação. Estas linhas ou estrias, não ocupam toda a espessura do compartimento do gradiente de densidade da cela de osmossedimentação, isto é, as estrias formam uma fina camada sobre a membrana. Além das estrias, observamos que a zona de dextrana azul aplicada sobre o gradiente de densidade se alarga durante o experimento, isto é, a zona de dextrana azul aumenta sua largura em relação a largura inicial da zona aplicada sobre o gradiente de densidade durante o experimento.

Nos experimentos 1, 3 e 5 não ocorre a formação de estrias na região próxima à base da cela de osmosedimentação e basicamente o que se observa é o alargamento da zona de dextrana azul aplicada sobre o gradiente de densidade. Todavia nos experimentos 3 e 5 observamos a formação de uma estria na região próxima ao topo da cela de osmossedimentação.

Nos experimentos 3, 5, 7 e 8 observamos que algumas das estrias apresentam, em suas bases, um perfil muito pouco peculiar, isto é, as estrias possuem um aspecto semelhante à "franjas" em suas bases. Perfis semelhantes aos citados aparecem em certas situações experimentais em que um fluido de maior densidade é posto sobre um outro fluido, de menor densidade, em uma cela de Hele-Shaw<sup>40</sup>. Uma cela de Hele-Shaw é constituída basicamente por duas placas de vidro superpostas de modo que a distância entre elas seja muito menor do que a largura das mesmas. As "franjas" que se formam na interface entre o fluido de maior densidade e o de menor densidade, em celas de Hele-Shaw, são chamadas de *Viscous Fingering*<sup>41</sup>.

A presença de Viscous Fingering associados a estrias não será estudada nesta tese, porque acreditamos que a formação de viscous fingering ocorre depois que as estrias se formam e portanto não interferem de modo significativo no processo de formação das estrias.

Também foi realizado um experimento de controle, no qual foi colocada uma fita adesiva sobre a membrana **somente** na região ocupada pela zona de dextrana azul. Neste experimento a velocidade de rotação, volume e concentração da zona de dextrana azul utilizadas, foram as mesmas do

experimento 8. Após 15 minutos de centrifugação não houve formação de estrias e o alargamento da zona de dextrana azul aplicada sobre o gradiente de densidade foi menor do que aquele observado no experimento oito. O resultado obtido está apresentado na figura 3.16.

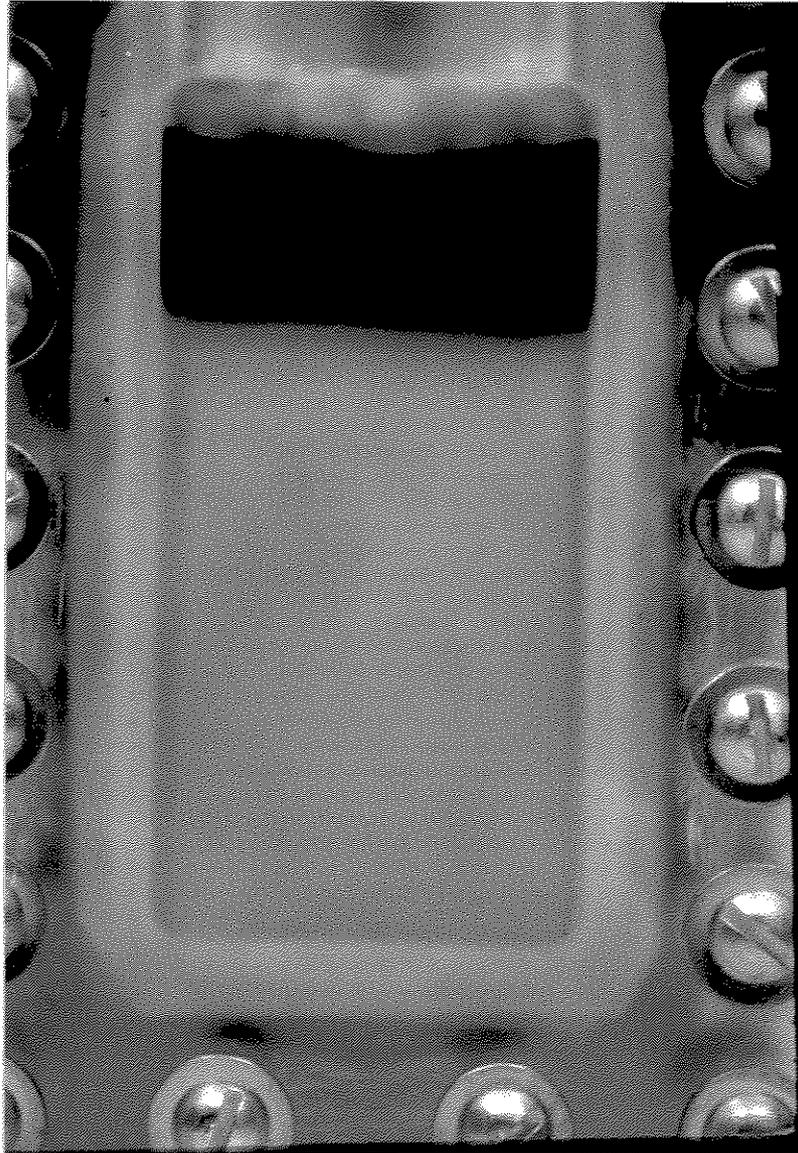


Figura 3.16: Foto da cela de osmossedimentação do experimento de controle após quinze minutos de centrifugação.

O resultado de grande interesse nos experimentos anteriores, isto é, a formação ou não das estruturas dissipativas, será analisado através do número de estrias formadas próximo a base da cela de osmossedimentação, as quais compõem a estrutura dissipativa.

Estes resultados, obtidos por análise visual das fotos anteriores estão apresentados na tabela 3.6 .

Tabela 3.6: Número de estrias formadas nos experimentos do plano fatorial e no experimento de controle

Experimento	Velocidade de rotação(rpm)	Volume da zona de dextrana azul(ml)	Concentração da zona de dextrana azul %(m/m)	Número de estrias observadas experimentalmente
1	2000	0,5	5	0
2	4000	1,0	10	6
3	2000	0,5	5	0
4	4000	1,0	10	6
5	2000	0,5	5	0
6	4000	1,0	10	6
7	2000	0,5	5	1
8	4000	1,0	10	6
Controle	4000	1,0	10	0

### 3.2.6 Osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de Polivinilpirrolidona corada com iodo

Estes experimentos foram realizados utilizando o mesmo procedimento anterior. Todavia a sistemática de exploração das variáveis não foi feita através de um plano fatorial. Eles foram executados mantendo-se constante a velocidade de centrifugação em 3000 rpm, a concentração da zona de polivinilpirrolidona corada com iodo em 15%(m/m) e variando-se o volume

da zona aplicada sobre o gradiente de densidade. Os volumes aplicados foram: 1ml, 2ml e 3ml.

Os resultados dos experimentos após cinco minutos de centrifugação estão apresentados na seqüência de fotos.

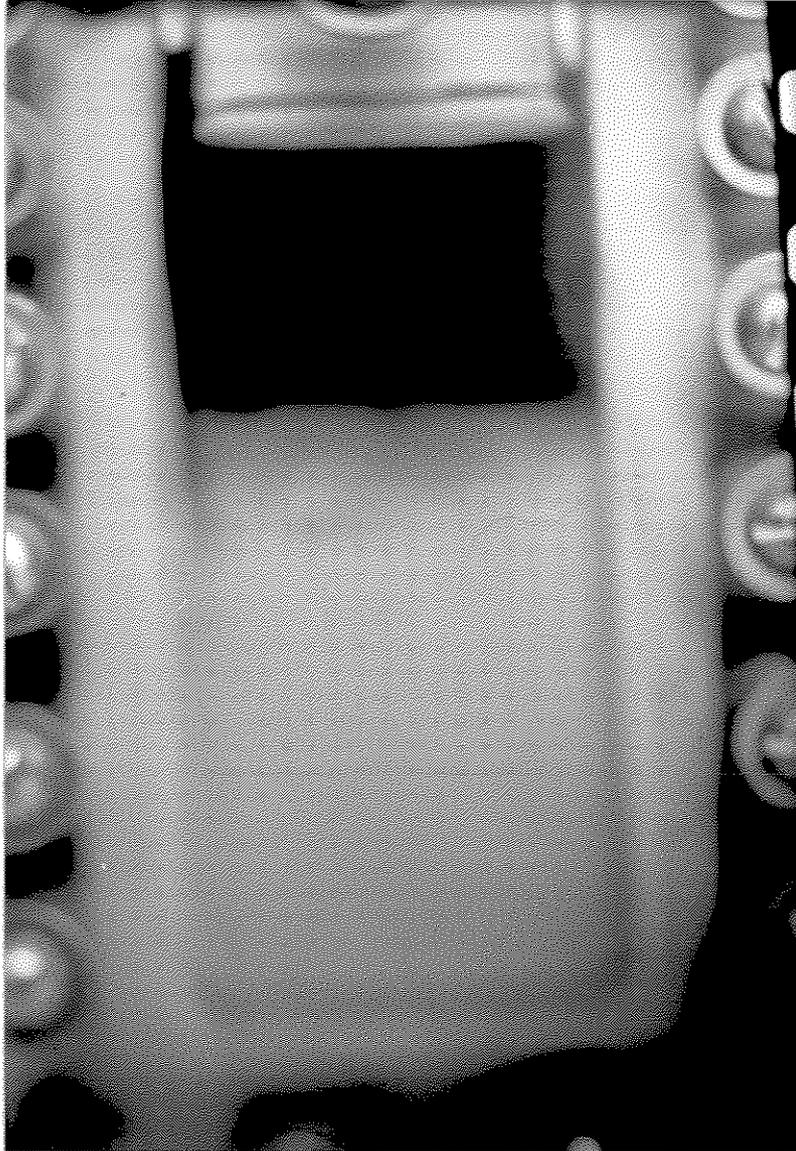


Figura 3.17: Foto da cela de osmosedimentação do experimento de osmocentrifugação zonal de 1 ml da solução de polivinilpirrolidona corada com iodo.

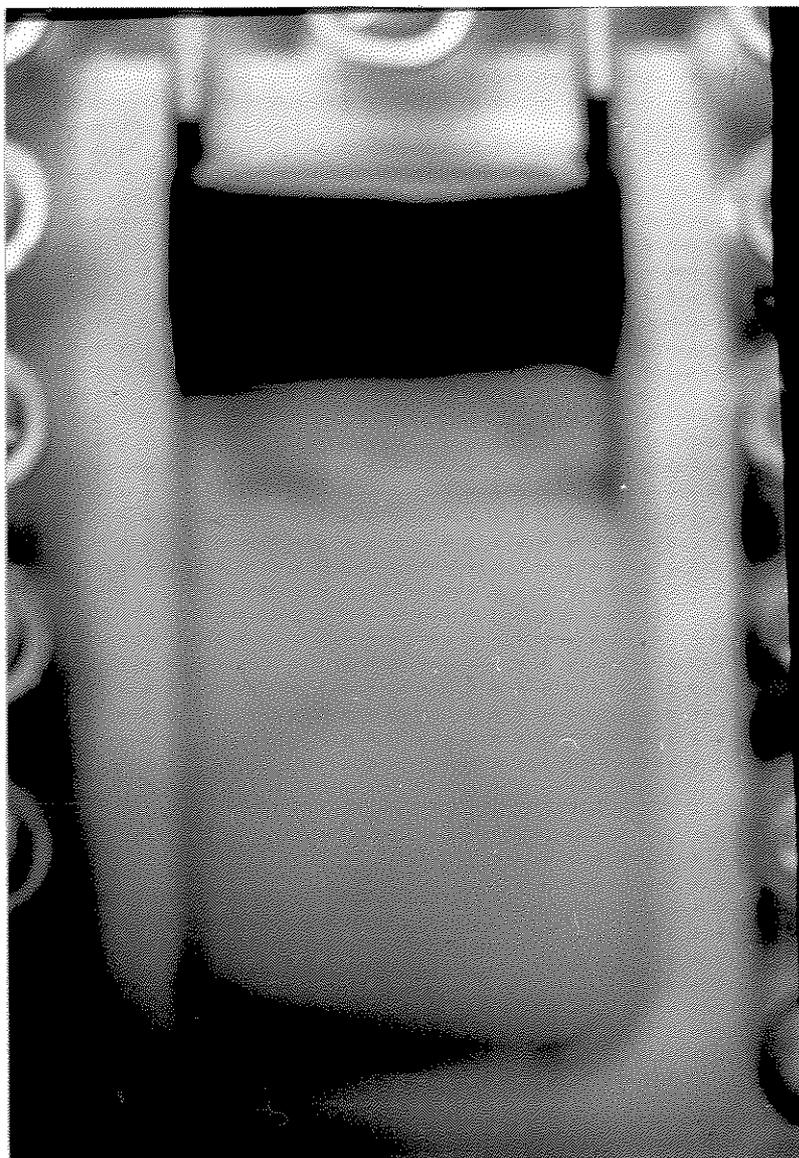


Figura 3.18: Foto da cela de osmossedimentação do experimento de osmocentrifugação zonal de 2 ml da solução de polivinilpirrolidona corada com iodo.

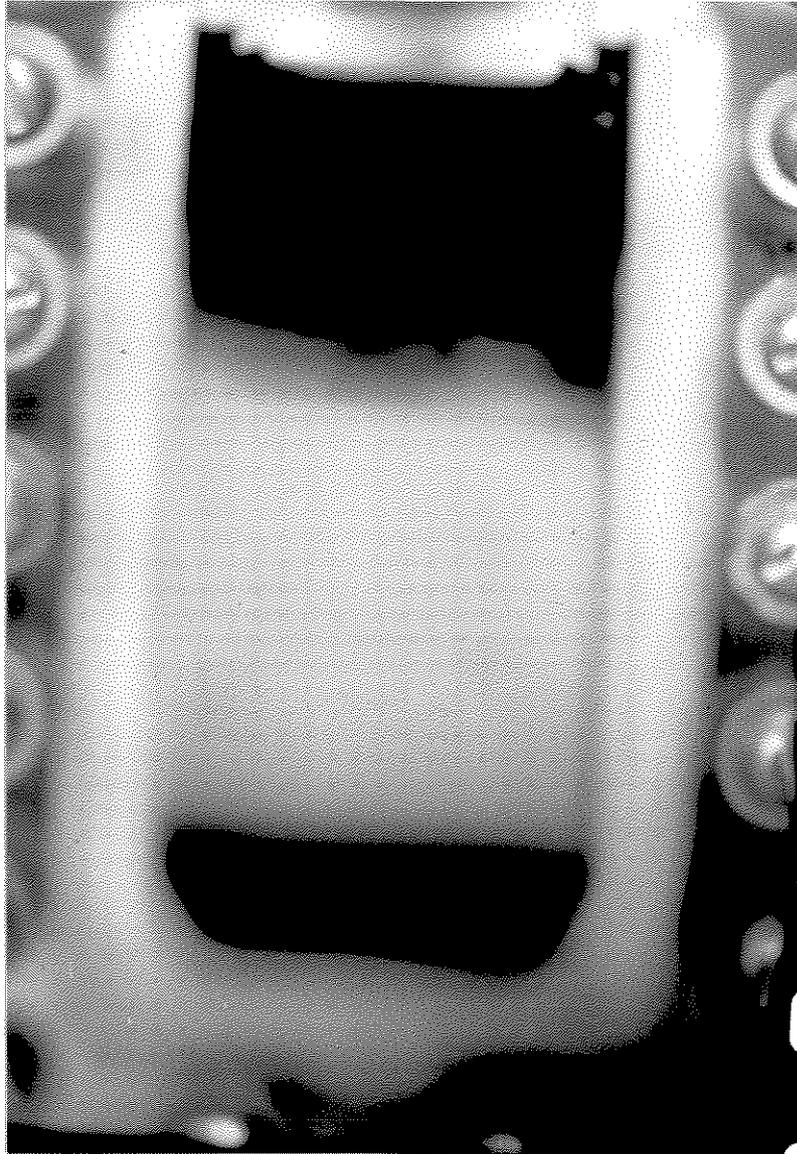


Figura 3.19: Foto da cela de osmossedimentação do experimento de osmocentrifugação zonal de 3 ml da solução de polivinilpirrolidona corada com iodo.

Na sequência de fotos referentes aos experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de polivinilpirrolidina, apresentada anteriormente, observamos que a quantidade de material transferido da zona no topo para o fundo da cela de osmossedimentação aumenta a medida que aumentamos o volume da zona de polivinilpirrolidona aplicada sobre o gradiente de densidade. Nesta sequência de fotos também observamos que a zona de polivinilpirrolidona aplicada sobre o gradiente de densidade se alarga durante os experimentos.

## 4. Discussão

### 4.1 Análise quimiométrica dos resultados experimentais

Os resultados dos experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de dextrana azul, isto é, o número de estrias formadas na região próxima a base da cela de osmossedimentação, foi analisado através do resultado de cálculos quimiométricos<sup>42</sup> executados com o auxílio do software "Fatorial"(gentilmente cedido pelo prof. Roy E. Bruns) em um microcomputador AT-386. O resultado de tais cálculos fornece o efeito de cada uma das variáveis e das interações entre elas, nos resultados dos experimentos. Na tabela 4.1 apresentamos os efeitos primários, secundários e terciários na formação das estrias.

Tabela 4.1: Efeitos das variáveis sobre a formação de estrias nos experimento de osmocentrifugação zonal de soluções de dextrana azul.

Efeitos	Estimativa do efeito da variável no número de estrias formadas
Velocidade de rotação ( $\omega$ )	5,5
Volume da zona(V)	0,0
Concentração da zona(C)	0,5
$\omega \times V$	-0,5
$\omega \times C$	0,0
$V \times C$	0,5
$\omega \times V \times C$	0,5

Da tabela 4.1 observamos que segundo a análise quimiométrica, somente uma variável possui efeito significativo na formação de estrias, isto é, a variável que controla a formação de estrias é a velocidade de rotação, tendo as outras variáveis influência desprezível. Segundo esta análise, se desejarmos obter a formação das estruturas dissipativas, devemos executar nossos experimentos com a velocidade de rotação em seu nível alto (4000 rpm) independentemente dos níveis das outras variáveis(volume e concentração).

Este resultado é extremamente importante, pois ele mostra que há condições adequadas e condições inadequadas para os experimentos de osmocentrifugação zonal.

Todavia, os efeitos das variáveis obtidos devem ser analisados com grande cautela, pois nos experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de polivinilpirrolidona corada com iodo observamos que o volume da zona aplicada sobre o gradiente de densidade também possui efeito na formação das estrias. Nestes experimentos, descritos na parte experimental(3.2.6), mantivemos constantes a concentração da zona de polivinilpirrolidona corada com iodo em 15% (m/m), a velocidade de rotação da centrífuga em 3000 rpm e variamos o volume da zona aplicada sobre o gradiente de densidade. Os resultados destes experimentos mostraram que o número de estrias formadas aumentava à medida que aumentávamos o volume da zona aplicada sobre o gradiente de densidade.

Assim, o fato de não termos obtido dentre os efeitos calculados a influência do volume da zona é um sintoma de que a região do espaço das variáveis onde foi executado o plano fatorial não era a região ótima<sup>43</sup>, no que diz respeito à variável, volume da zona de dextrana azul.

A afirmação anterior pode ser melhor entendida da seguinte maneira: Suponha-se que temos uma função, de uma variável qualquer, cuja derivada seja pequena em uma certa região do seu domínio e que fora desta o seu valor cresça rapidamente. Deste modo, se explorássemos esta função na região do domínio onde a derivada é pequena e extrapolássemos o comportamento encontrado para todo o domínio, a função pareceria, enganosamente, ter pequena dependência da variável em questão. No nosso caso tal variável é o volume da zona aplicada sobre o gradiente de densidade.

Pela razão exposta no parágrafo acima, devemos interpretar com muito cuidado planos fatoriais que forneçam grande efeito para uma das variáveis e efeitos desprezíveis para as demais.

Existem outras técnicas quimiométricas, como simplex<sup>44</sup> e planejamentos fatoriais não lineares<sup>45</sup> que possibilitam eliminar ou atenuar os problemas anteriores. Porém, o uso de tais técnicas requer um grande número de experimentos, contrariando uma das grandes vantagens do uso de planos fatoriais, qual seja, obter muitas informações executando um mínimo de experimentos.

Concluindo, o uso de planos fatoriais é muito útil quando o experimentador possui um certo *feeling* da região ótima do espaço das variáveis, onde os experimentos devem ser executados, bem como tem uma boa visão sobre os domínios realmente interessantes, para as diferentes variáveis.

## 4.2. O modelamento do fenômeno

Por motivos didáticos dividimos a apresentação do modelo em duas partes. Na primeira temos o modelo qualitativo, no qual são apresentados e discutidos os conceitos físicos utilizados na modelagem do fenômeno. Na segunda, colocamos este modelo qualitativo em bases matemáticas e testamos sua validade, aplicando-o à interpretação dos experimentos realizados.

### 4.2.1. Modelo qualitativo para a formação das estruturas dissipativas

Quando adicionamos a zona de dextrana azul sobre o gradiente de densidade recém preparado e levamos à centrifuga, a situação experimental obtida está ilustrada na figura 4.1.

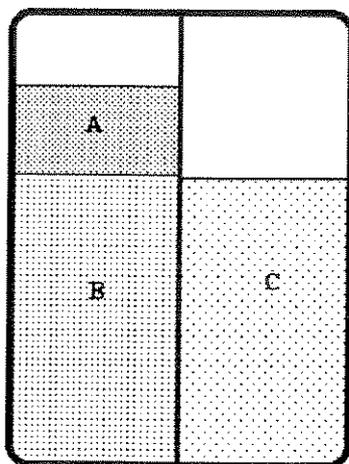


Figura 4.1: Vista em perfil (fora de escala) da cela de osmossedimentação, já carregada com a zona de dextrana azul. **A** é a zona de dextrana azul, **B** o gradiente de densidade e **C** o solvente.

Como podemos observar na figura(4.1), a zona de dextrana azul posta sobre o gradiente de densidade não está em contato com o solvente, contido no compartimento do outro lado da membrana. Portanto, estabelece-se nesta região um gradiente de pressão através da membrana, que aumenta com o início da centrifugação, pois passamos para um campo inercial de maior intensidade do que o campo gravitacional.

Tendo em mente a situação experimental anterior idealizamos um mecanismo para a formação das estrias segundo o qual estas são formadas devido ao adensamento, por ultrafiltração, da zona de dextrana azul posta sobre o gradiente de densidade. Na figura 4.2 temos a representação do fluxo de água que deixa a zona de dextrana azul. O fluxo de água que deixa a zona (representado pelas setas) é maior próximo à base, pois nesta região a pressão hidrostática é maior.

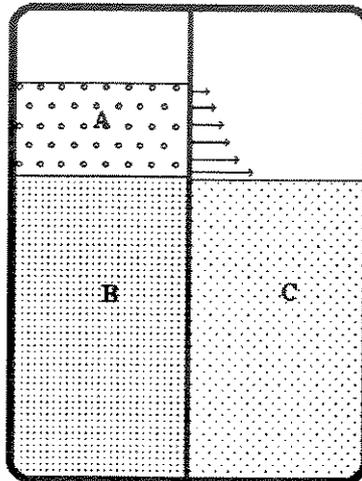


Figura 4.2: Representação do fluxo de solvente através da membrana, na zona de dextrana azul, após o início da centrifugação. A é a zona de dextrana azul, B é o gradiente de densidade e C é o solvente.

Devido à saída de água, a zona de dextrana azul torna-se mais concentrada na região próxima à base e junto à membrana, com o passar do tempo. A densidade desta região aumenta até um valor crítico no qual se torna instável, podendo superar as forças dissipativas (viscosidade e difusão) da solução do topo do gradiente de densidade e descer convectivamente, semelhante ao que ocorre no experimento de Bénard, no início da convecção. A estria assim formada, descera pelo gradiente de densidade até sua posição isopícnica, isto é, até o ponto onde a densidade da estria for a mesma do

gradiente de densidade. Como as forças dissipativas a serem superadas são constantes, todas as estrias formadas terão a mesma densidade e conseqüentemente irão parar na mesma posição do gradiente de densidade, isto é, elas terão a mesma posição isopícnica. Na figura 4.3 ilustramos o processo de formação de uma estria.

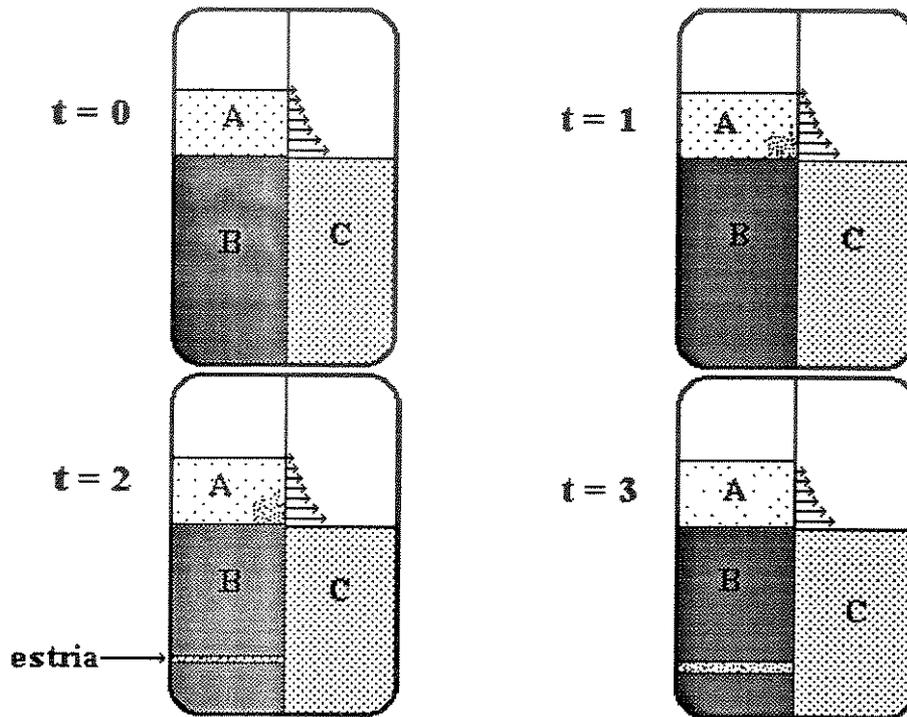


Fig.(4.3): Representação esquemática do processo de formação de uma estria, em uma cela de osmossedimentação vista em perfil.

Na figura 4.1 observamos que no tempo  $t = 1$  há a formação de uma região adensada na região próxima à base e junto à membrana, a qual irá formar uma estria. No tempo  $t = 2$ , o processo se repete a há a formação de outra estria, que irá parar na mesma posição da estria formada no ciclo anterior.

Como a região onde as estrias param no gradiente de densidade é uma região de osmose reversa, pois o potencial químico da solução do gradiente de densidade é maior do que o potencial químico do solvente nesta região,

elas podem sofrer novo adensamento e descer mais um pouco na coluna de solução do gradiente de densidade, gerando o padrão espacial observado.

Em experimentos em que o fluxo de água que sai da zona de dextrana azul for pequeno, o adensamento da região próxima à base e junto à membrana será lento, possibilitando que as moléculas de dextrana azul arrastadas pelo fluxo de água até a superfície da membrana, na região em adensamento, possam se difundir novamente para o interior da solução impedindo que a densidade supere as forças dissipativas da solução do topo da coluna de solução do gradiente de densidade. Portanto, nestes experimentos não há formação de estrias.

No experimento de controle os valores das variáveis utilizadas foram os mesmos do experimento oito, isto é, a velocidade de rotação utilizada foi 4000 rpm, o volume da zona aplicada sobre o gradiente foi 1 ml e a concentração da solução utilizada foi de 10%. Todavia, neste experimento colocamos uma fita adesiva sobre a membrana, na região da zona de dextrana azul aplicada sobre o gradiente de densidade, impedindo o fluxo de água para fora da zona de dextrana azul e não houve a formação de estrias. Este fato confirma que o fluxo de solvente para fora da zona de dextrana azul é o responsável pela formação das estrias.

Até o momento descrevemos o processo de formação das estrias, a seguir descreveremos como este processo termina.

Com a formação das estrias há a remoção de soluto da zona de dextrana azul, reduzindo a concentração da mesma. O resultado líquido do decréscimo da concentração será o aumento do tempo necessário para a densidade atingir seu valor crítico e formar uma estria, isto é, a formação de uma estria aumenta o tempo necessário à formação da estria seguinte.

Como dissemos anteriormente, o fluxo de água que deixa a zona de dextrana azul é o responsável pelo adensamento. Todavia, com a saída de água a altura da zona de dextrana azul diminui, logo a pressão hidrostática na base da mesma será reduzida, causando a redução do fluxo. Novamente o resultado líquido será o aumento do tempo necessário ao adensamento.

Resumindo, a formação das estrias causa decréscimo na concentração e na altura da zona de dextrana azul posta sobre o gradiente de densidade. O efeito desta diminuição é o aumento do tempo necessário ao adensamento, resultando no término do processo.

### 4.3 Modelo quantitativo para formação das estrias

A situação experimental a ser modelada está representada na figura 4.4.

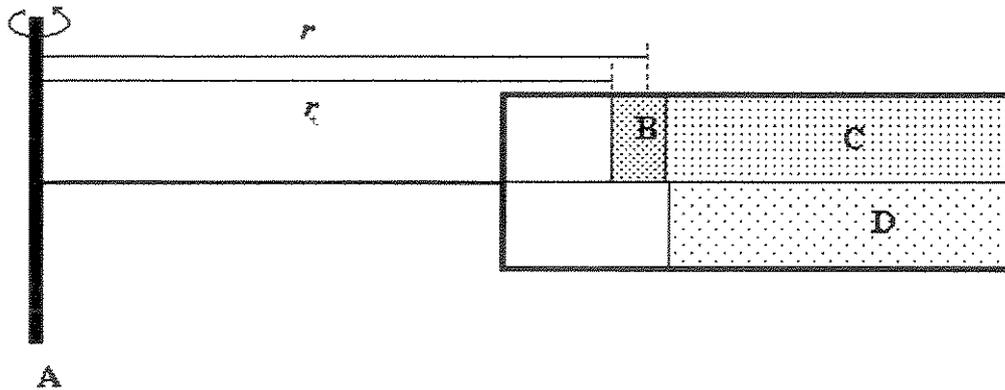


Fig.(4.4): Situação experimental a ser modelada. Representação esquemática da cela de osmossedimentação, já carregada com a zona de dextrana azul, no campo centrífugo. Nesta, **A** é o eixo do rotor da centrífuga, **B** é a zona de dextrana azul, **C** é o gradiente de densidade e **D** é solvente.

Com o início da centrifugação, se estabelece um diferença de pressão através da membrana na zona de dextrana azul, conforme descrevemos no item 4.2. Para obtermos tal diferença de pressão, devemos calcular a pressão em cada um dos compartimentos, isto é, pressão na zona de dextrana azul e a pressão do outro lado membrana. A pressão na zona de dextrana azul é dada por:

$$P_{zona} = P_{atm} + P_S \quad \text{eq.(4.1)}$$

onde  $P_{atm}$  é a pressão atmosférica e  $P_S$  é a pressão hidrostática da coluna de solução na zona.

A pressão hidrostática<sup>46</sup> na zona de dextrana azul é dada por:

$$dP_s = \rho_s g dr \quad \text{eq.(4.2)}$$

como estamos em campo centrífugo, temos:

$$dP_s = \rho_s \omega^2 r dr \quad \text{eq.(4.3)}$$

assim

$$P_s = \rho_s \omega^2 \int_{r_i}^{r_s} r dr \quad \text{eq.(4.4)}$$

resolvendo a integral anterior, obtemos:

$$P_s = \frac{1}{2} \rho_s \omega^2 [r_s^2 - r_i^2] \quad \text{eq.(4.5)}$$

A pressão do outro lado da membrana é simplesmente a pressão atmosférica  $P_{atm}$ . Logo, o gradiente de pressão através da membrana será:

$$\Delta P = P_{zona} - P_{atm} \quad \text{eq.(4.6)}$$

Substituindo  $P_{zona}$  na equação 4.5 obtemos:

$$\Delta P = P_{atm} + P_s - P_{atm} \quad \text{eq.(4.7)}$$

portanto, a diferença de pressão através da membrana será dada por:

$$\Delta P = \frac{1}{2} \rho_s \omega^2 [r_s^2 - r_i^2] \quad \text{eq.(4.8)}$$

onde:

$\rho_s$  = densidade da solução

$\omega$  = velocidade de rotação

$r_t$  = distância do eixo ao topo da zona de dextrana azul

$r_s$  = distância do eixo a um ponto qualquer na zona de dextrana azul

O fluxo de solvente através da membrana é dado, dentro aproximação linear<sup>47</sup>, por:

$$J = L_p \Delta P \quad \text{eq.(4.9)}$$

onde  $L_p$  é um parâmetro diretamente relacionado à permeabilidade da membrana<sup>47</sup>.

Substituindo o valor de  $\Delta P$ , dado pela equação 4.8, na equação anterior, obtemos:

$$J = \frac{1}{2} L_p \rho_s \omega^2 [r_s^2 - r_t^2] \quad \text{eq.(4.10)}$$

Conforme dissemos anteriormente, com a saída de água a altura da zona de dextrana diminui. Isto significa que o valor de  $r_t$  é função do tempo e conseqüentemente o fluxo(J) não será função só da posição na zona de dextrana azul( $r_s$ ), mas da posição na zona de dextrana azul e do tempo. Assim, devemos reescrever a equação 4.10 como segue:

$$J = J(r_s, t) = \frac{1}{2} L_p \rho_s \omega^2 [r_s^2 - r_s^2(t)] \quad \text{eq.(4.11)}$$

Fluxo e vazão são relacionados através da equação abaixo:

$$J(r_s, t) = \frac{d\phi}{dA} \quad \text{eq.(4.12)}$$

onde  $\phi$  é a vazão e  $dA$  é o elemento de área da membrana. A vazão será dada por:

$$\phi(r_s, t) = \int_A J(r_s, t) dA \quad \text{eq.(4.13)}$$

Para obtermos o elemento de área anterior devemos fazer algumas considerações. Quando adicionamos sobre o gradiente de densidade a zona de dextrana azul, a situação experimental obtida está apresentada na figura 4.5.

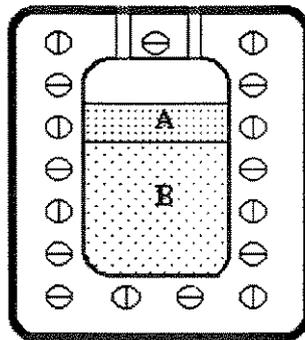


Fig.(4.5): Vista frontal da cela de osmossedimentação, já carregada com a zona de dextrana azul (A) sobre o gradiente de densidade (B), antes do início da centrifugação.

Na figura (4.5) observamos, desconsiderando os efeitos de capilaridade, que a superfície e a interface líquido-líquido (gradiente de densidade com a zona de dextrana azul) são planas. Esta situação experimental é a que normalmente se observa em superfícies e interfaces de líquidos, em equilíbrio, contidos em reservatórios com pequenas dimensões

horizontais<sup>47</sup> no campo gravitacional ordinário. Ainda que "pequena", em certos casos, possa representar alguns quilômetros!

Com o início da centrifugação a situação experimental anterior muda completamente. As superfícies e interfaces da zona de dextrana azul se adaptam às isóbaras do campo centrífugo e a nova geometria da zona está ilustrada na figura 4.6 .

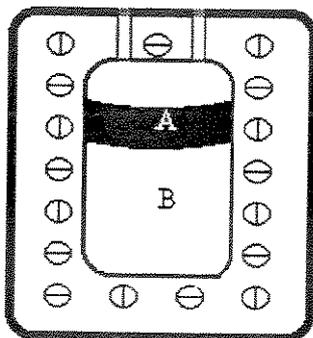


Figura 4.6: Vista frontal da cela de osmossedimentação, já carregada com a zona de dextrana azul (A) sobre o gradiente de densidade (B), após o início da centrifugação.

Podemos deduzir da equação(4.6), que as isóbaras são círculos concêntricos, centrados no eixo do rotor. Os cálculos de tais isóbaras, fornecem o diagrama da figura 4.7.

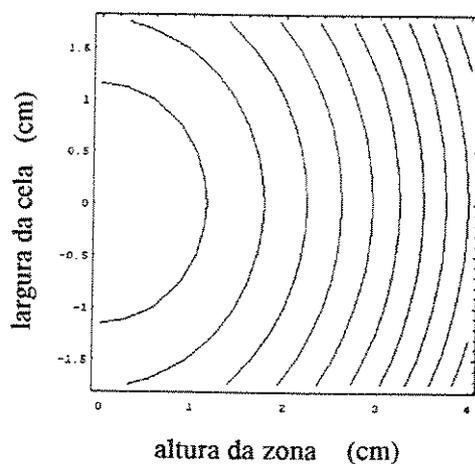


Fig.(4.7): Linhas isobáricas na zona de dextrana azul, isto é, na região A da figura 4.6 .

Feitas as considerações necessárias sobre a conformação da zona de dextrana azul no campo centrífugo, vamos ao cálculo do elemento de área.

Deve ficar claro que o elemento de área que procuramos nada tem a ver com o elemento de área em coordenadas polares. Ele deve ser obtido através da análise geométrica da zona de dextrana azul posta sobre coluna do gradiente de densidade após iniciada a centrifugação, como ilustrado na figura 4.8.

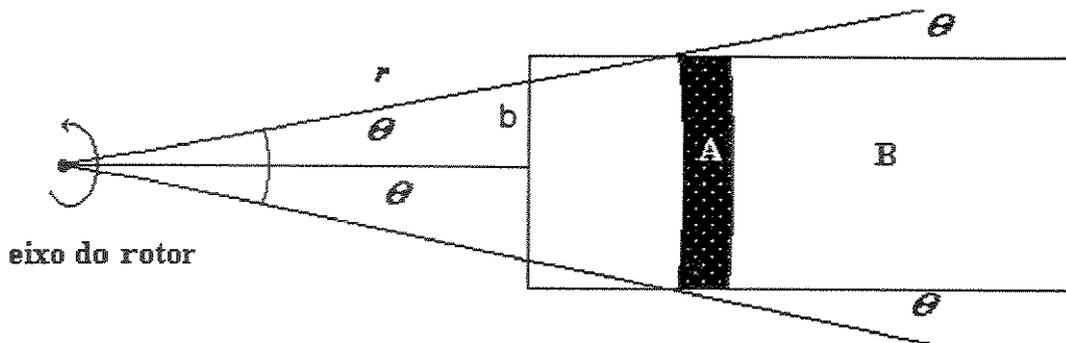


Fig. (4.8): Elemento de volume da zona de dextrana azul (A) no campo centrífugo.

A expressão obtida para o elemento de área é a seguinte:

$$dA = \left[ \frac{1}{2} \theta(r_s) (r_s + dr_s)^2 - \frac{1}{2} \theta(r_s) r_s^2 \right] - \frac{1}{2} \theta(r_s) dr_s^2 \text{ eq.(4.14)}$$

fazendo-se as simplificações necessárias obtemos:

$$dA = \theta(r_s) r_s dr_s \text{ eq.(4.15)}$$

da figura 4.8 podemos obter que

$$\theta(r_s) = 2 \arcsen\left(\frac{b}{r_s}\right) \quad \text{eq.(4.16)}$$

finalmente, substituindo a equação 4.16 na equação 4.15, obtemos a seguinte equação para o elemento de área:

$$dA = 2 r_s \arcsen\left(\frac{b}{r_s}\right) dr_s \quad \text{eq.(4.17)}$$

Obtido o elemento de área podemos voltar ao cálculo da vazão. Substituindo a equação 4.16 na equação 4.12 obtemos:

$$\phi(r_s, t) = L_p \rho_s \omega^2 \int_{r_i(t)}^r r_s^3 \arcsen\left(\frac{b}{r_s}\right) dr_s - L_p \rho_s \omega^2 r_i(t) \int_{r_i(t)}^r r_s \arcsen\left(\frac{b}{r_s}\right) dr_s \quad \text{eq.(4.18)}$$

Integrando-se a equação 4.18 obteremos a seguinte expressão para a vazão:

$$\begin{aligned} \phi(r_s, t) = L_p \rho_s \omega^2 & \left[ b \sqrt{1 - \frac{b^2}{r_i^2(t)}} r_i(t) - r_s \left( b \sqrt{1 - \frac{b^2}{r_s}} + r_s \arcsen\left(\frac{b}{r_s}\right) \right) + r_i^2(t) \arcsen\left(\frac{b}{r_i(t)}\right) \right] - \\ & L_p \rho_s \omega^2 \left[ \sqrt{1 - \frac{b^2}{r_s^2}} \left( \frac{b^3 r_s}{6} + \frac{b r_s^3}{12} \right) \right] + \left[ \sqrt{1 - \frac{b^2}{r_i^2(t)}} \left( \frac{b^3 r_i(t)}{6} + \frac{b r_i^3(t)}{12} \right) \right] - \\ & \frac{1}{4} L_p \rho_s \omega^2 \left[ r_s^4 \arcsen\left(\frac{b}{r_s}\right) + r_i^4(t) \arcsen\left(\frac{b}{r_i(t)}\right) \right] \quad \text{eq.(4.19)} \end{aligned}$$

Como a vazão é o volume de solvente que deixa a zona de dextrana azul por unidade de tempo:

$$\phi(r_s, t) = \frac{dV}{dt} \quad \text{eq.(4.20)}$$

então o volume que deixa a solução de dextrana em determinado intervalo de tempo é dado por:

$$V(r_s, t) = \int_{t_1}^{t_2} \phi(r_s, t) dt \quad \text{eq.(4.21)}$$

Antes de resolvermos a integral da equação 4.21 devemos conhecer como  $r_t(t)$  varia com o tempo, pois este aparece em diversos pontos da expressão obtida para a vazão. A seguir vamos obter a expressão para  $r_t(t)$ .

O volume de água que sai pode ser relacionado com a altura da zona de dextrana azul, por:

$$\frac{dV}{dt} = A \frac{dr_t(t)}{dt} \quad \text{eq.(4.22)}$$

onde  $A$  é a área da secção reta da zona de dextrana de azul, na direcção perpendicular ao eixo do rotor, a qual é dada por:

$$A = 2 a r_t(t) \arcsen\left(\frac{b}{r_t(t)}\right) \quad \text{eq.(4.23)}$$

onde  $a$  é a espessura da cela de osmossedimentação.

Substituindo o valor de  $A$  na equação 4.22 obtemos:

$$\begin{aligned}
\frac{dr_t(t)}{dt} = & \frac{L_p \rho_s \omega^2}{4a r_t(t) \arcsen\left(\frac{b}{r_t(t)}\right)} \left[ b \sqrt{1 - \frac{b^2}{r_t^2(t)}} r_t(t) - r_s \left( b \sqrt{1 - \frac{b^2}{r_s^2}} + r_s \arcsen\left(\frac{b}{r_s}\right) \right) + r_t^2(t) \arcsen\left(\frac{b}{r_t(t)}\right) \right] - \\
& \frac{L_p \rho_s \omega^2}{2a r_t(t) \arcsen\left(\frac{b}{r_t(t)}\right)} \left[ \sqrt{1 - \frac{b^2}{r_s^2}} \left( \frac{b^3 r_s}{6} + \frac{b r_s^3}{12} \right) \right] + \left[ \sqrt{1 - \frac{b^2}{r_t^2(t)}} \left( \frac{b^3 r_t(t)}{6} + \frac{b r_t^3(t)}{12} \right) \right] - \\
& \frac{L_p \rho_s \omega^2}{16a r_t(t) \arcsen\left(\frac{b}{r_t(t)}\right)} \left[ r_s^4 \arcsen\left(\frac{b}{r_s}\right) + r_t^4(t) \arcsen\left(\frac{b}{r_t(t)}\right) \right]
\end{aligned} \tag{4.24}$$

Para obtermos a variação de  $r_t(t)$  com o tempo devemos resolver a equação diferencial não-linear anterior. A solução da equação 4.24 é obtida numericamente<sup>49,50</sup>, pois a solução analítica dificilmente fornecerá uma expressão na qual  $r_t(t)$  possa ser explicitado e portanto é de pouco valor. Os gráficos das soluções numéricas da equação 4.24 para cada um dos oito experimentos (secção 3.2.5) de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de dextrana azul estão apresentados na seqüência de figuras abaixo:

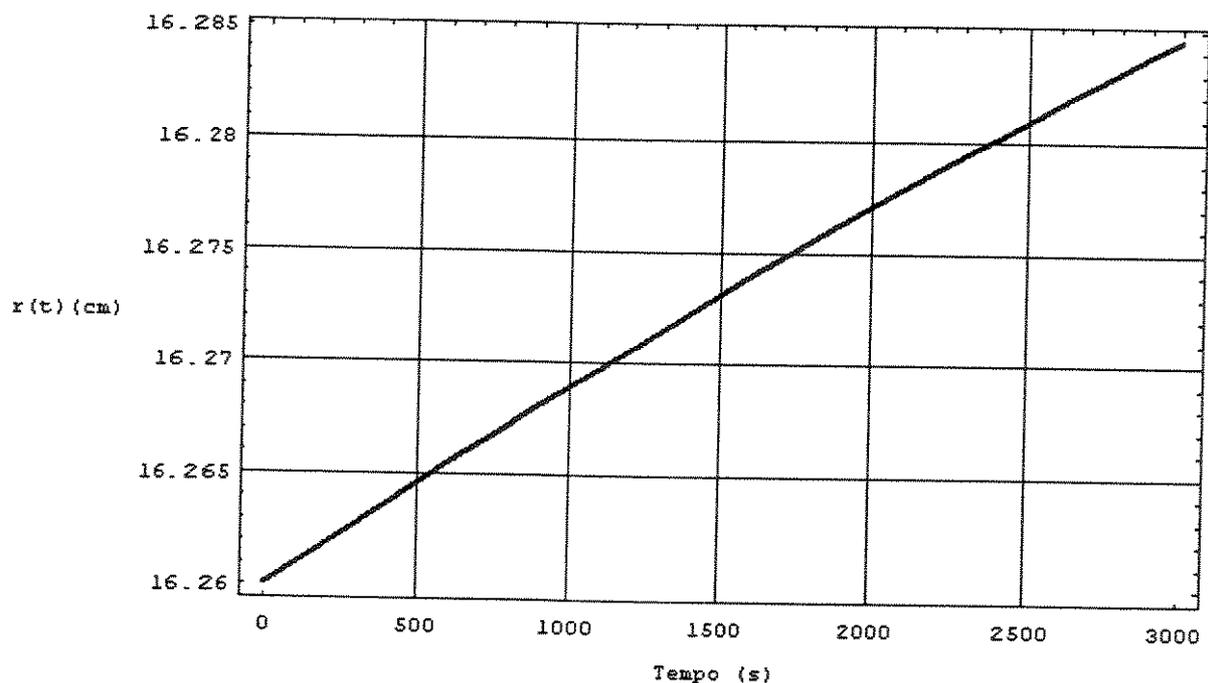


Figura 4.9: Gráfico da solução numérica da equação 4.24 para o experimento 1.

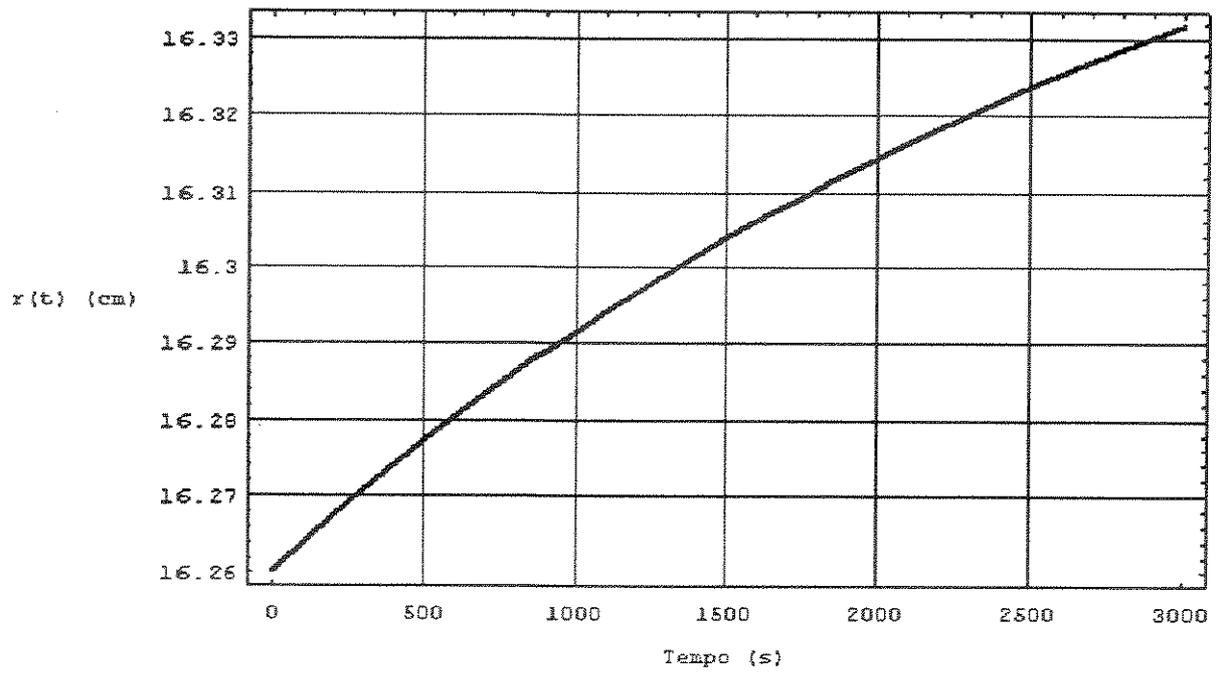


Figura 4.10: Gráfico da solução numérica da equação 4.24 para o experimento 2.

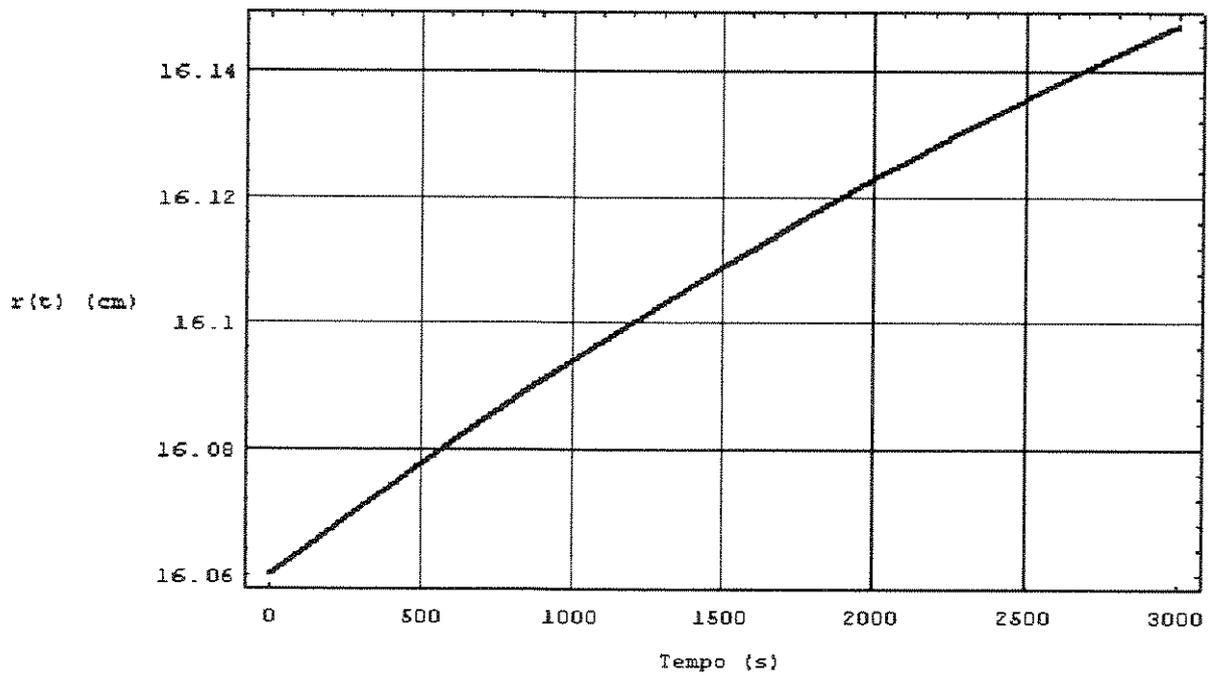


Figura 4.11: Gráfico da solução numérica da equação 4.24 para o experimento 3.

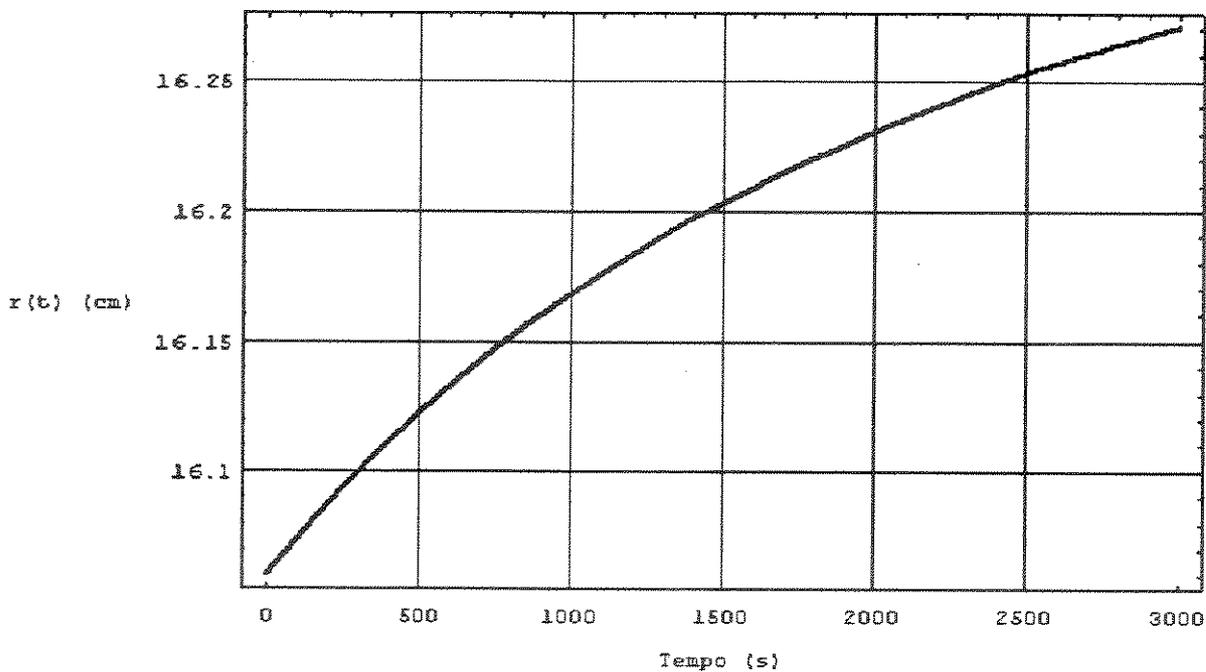


Figura 4.12: Gráfico da solução numérica da equação 4.24 para o experimento 4.

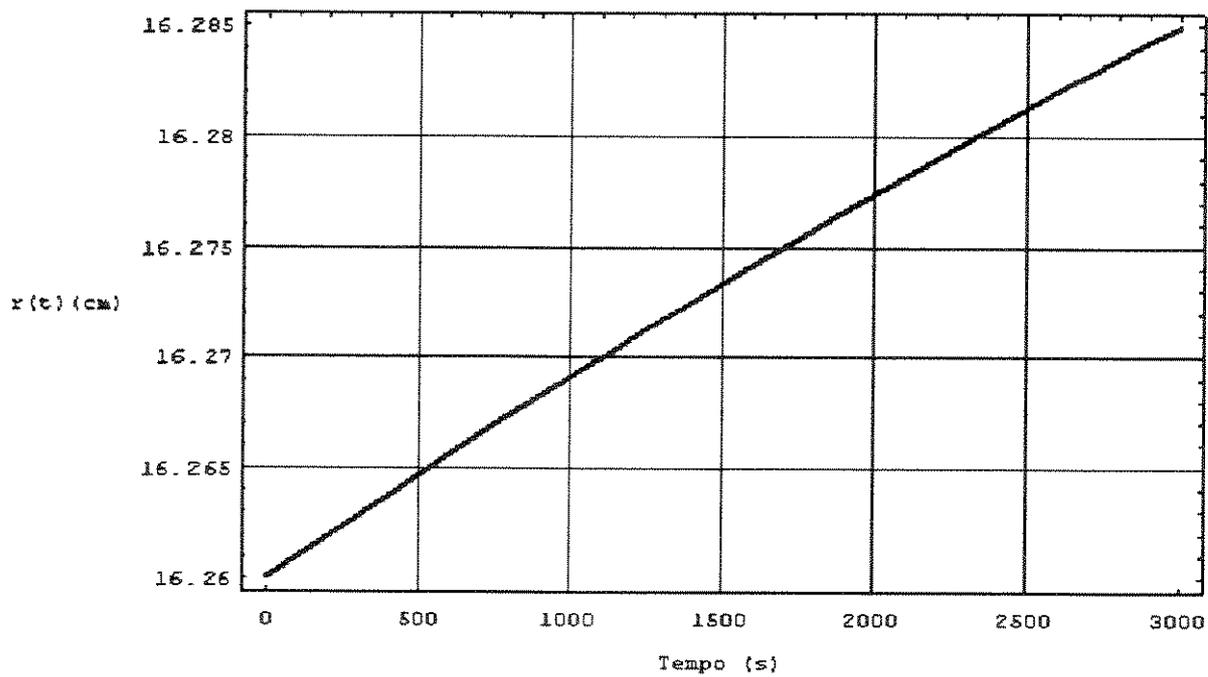


Figura 4.13: Gráfico da solução numérica da equação 4.24 para o experimento 5.

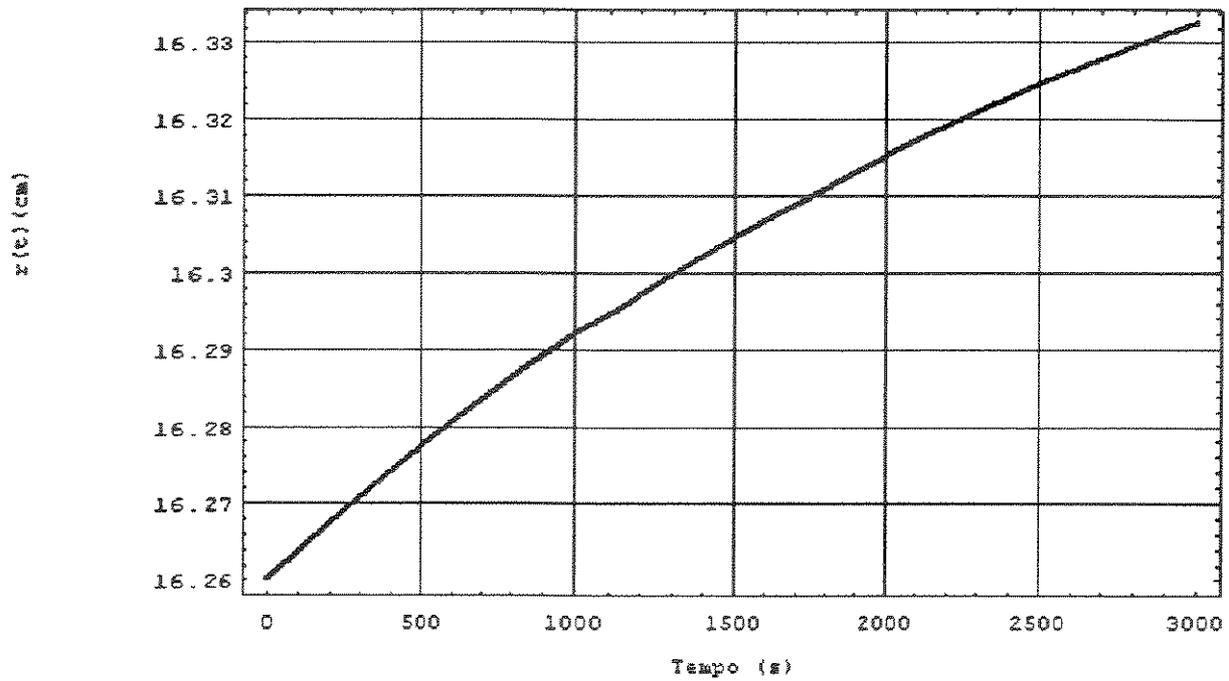


Figura 4.14: Gráfico da solução numérica da equação 4.24 para o experimento 6.

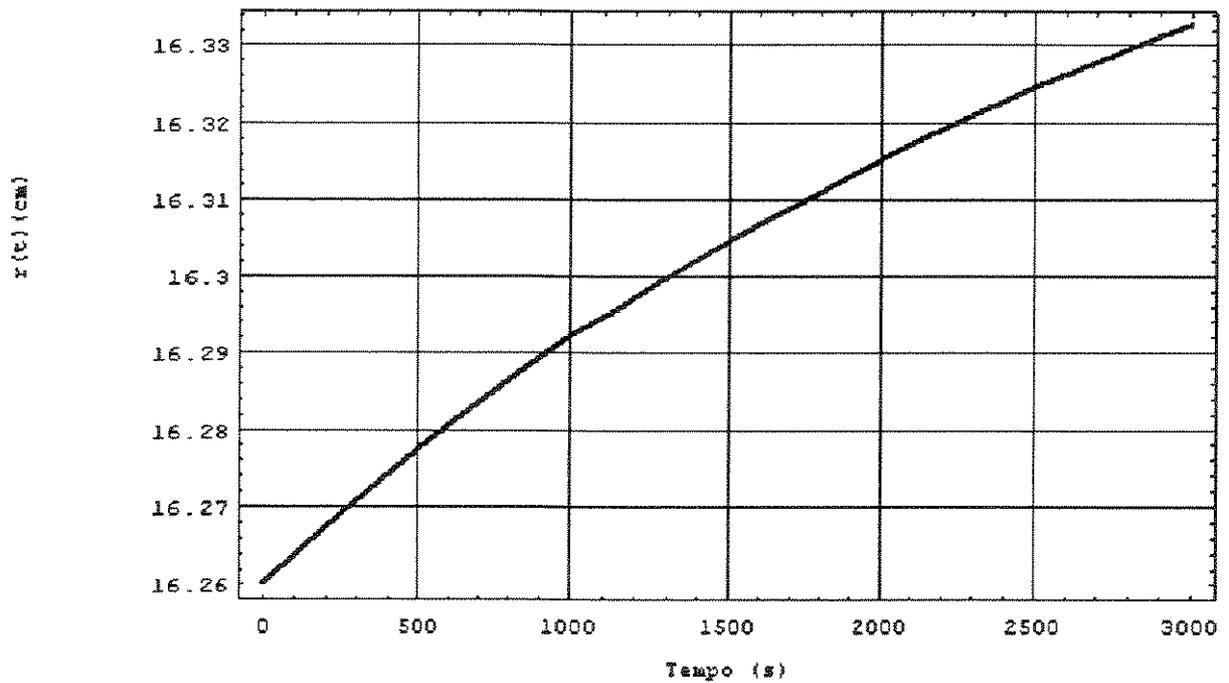


Figura 4.15: Gráfico da solução numérica da equação 4.24 para o experimento 7.

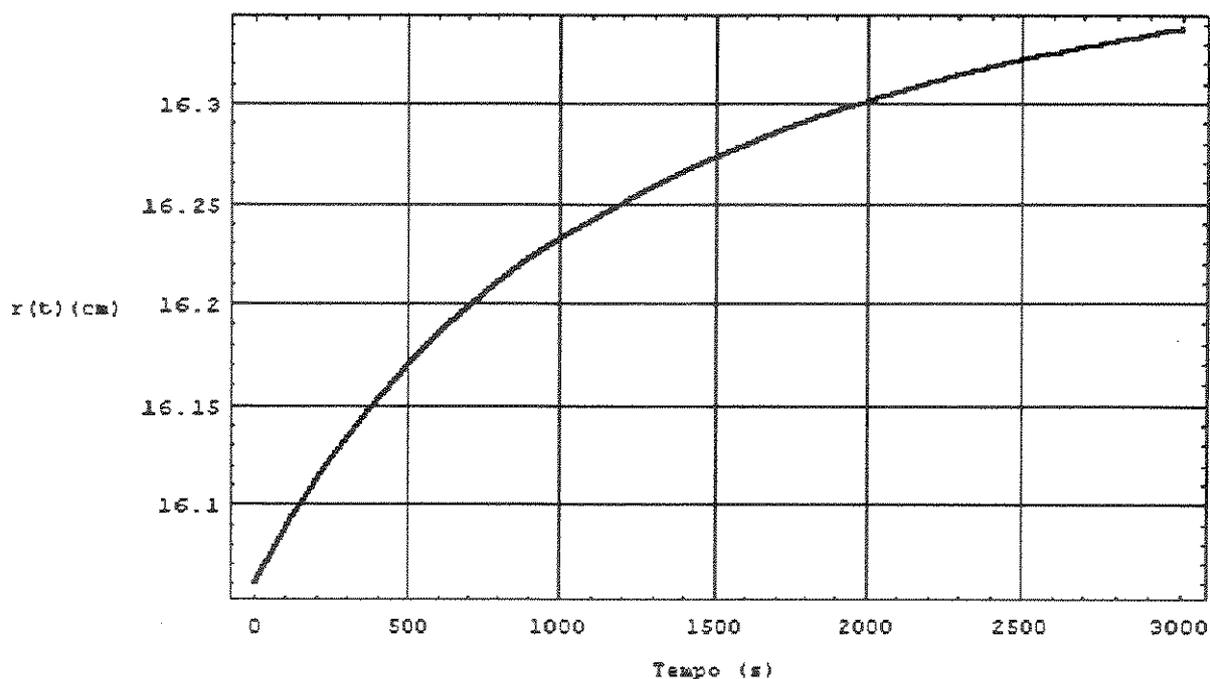


Figura 4.16: Gráfico da solução numérica da equação 4.24 para o experimento 8.

Conhecendo-se como  $r_i(t)$  varia com o tempo, podemos calcular a vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul. Os gráficos da vazão em função do tempo e da posição, obtidos da equação (4.19) para os experimentos realizados, estão apresentados abaixo. Nestes gráficos temos a vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para cada um dos experimentos do plano fatorial.

A projeção no plano vazão-tempo representa a vazão em função do tempo pela área situada entre o topo da zona de dextrana azul ( $r_i$ ) e uma posição qualquer na mesma. A projeção no plano vazão-posição representa a vazão em função da posição na zona de dextrana azul durante o tempo do experimento.

Uma vez obtida a vazão, podemos calcular através da equação (4.19) o volume de solvente que deixa a zona de dextrana azul por um determinado elemento de área da membrana, em um determinado intervalo de tempo. Assim, já temos elementos para calcular a variação da concentração com o tempo(ou adensamento) da zona de dextrana azul, na região próxima a base e junto a membrana, devido a saída de água.

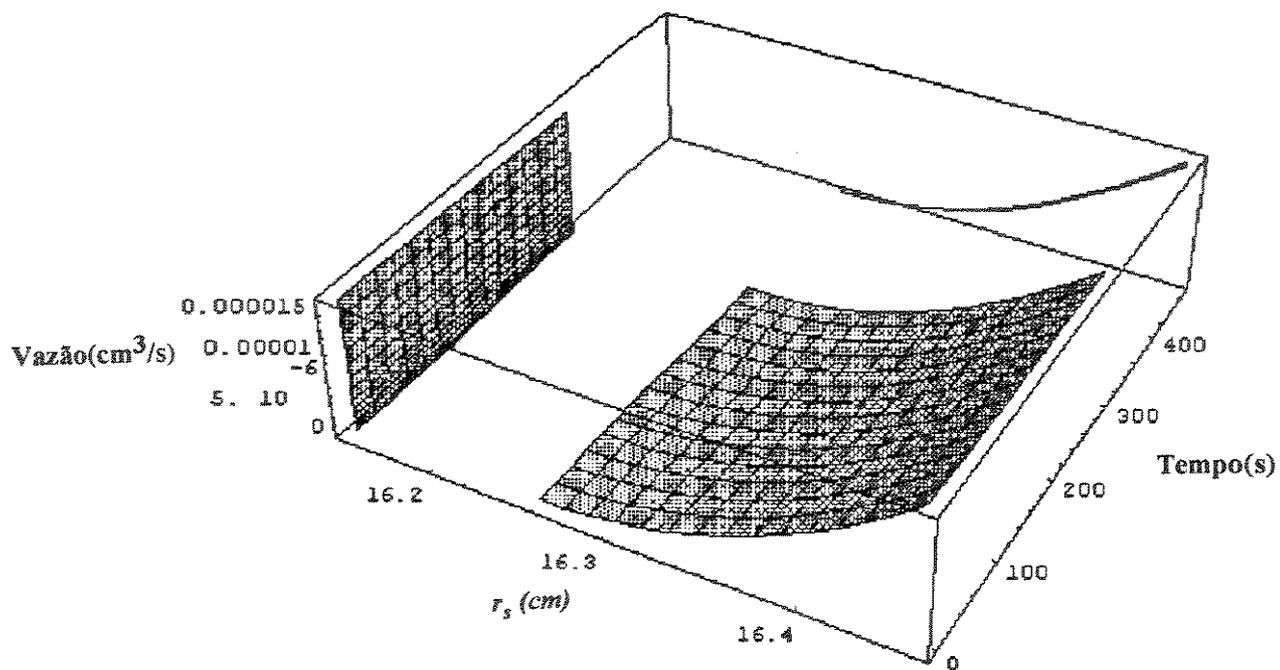


Figura 4.17: Vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para o experimento 1.

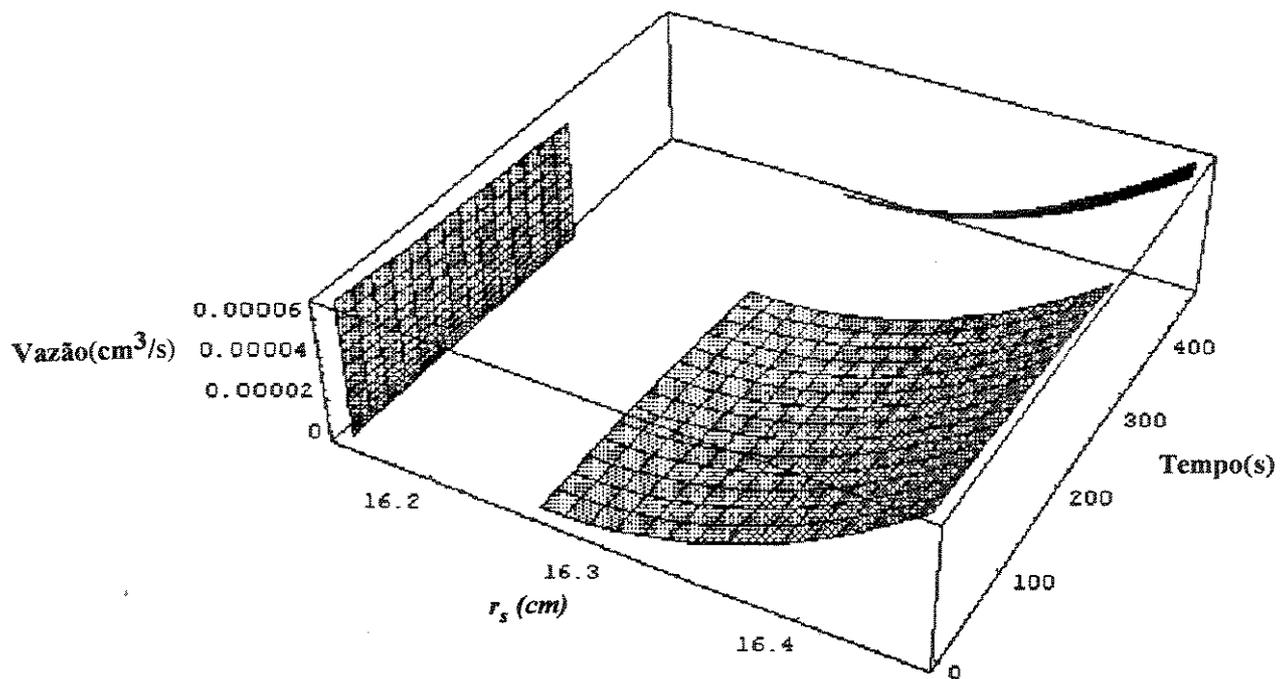


Figura 4.18: Vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para o experimento 2.

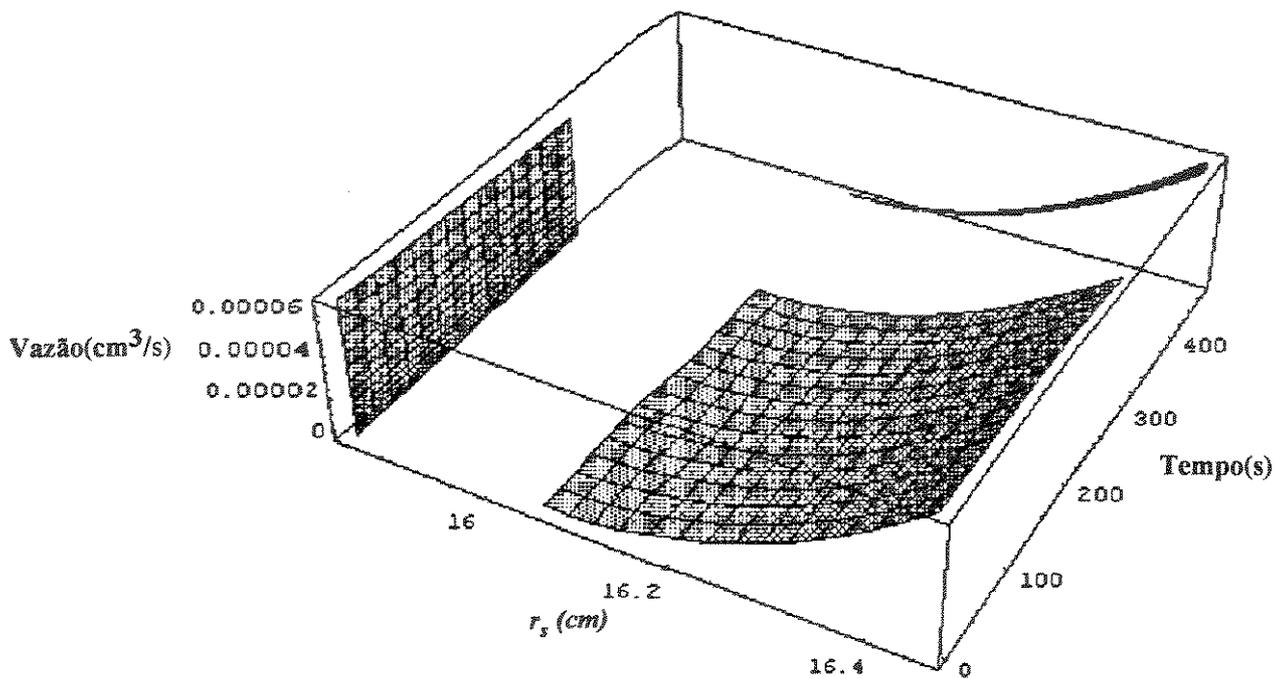


Figura 4.19: Vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para o experimento 3.

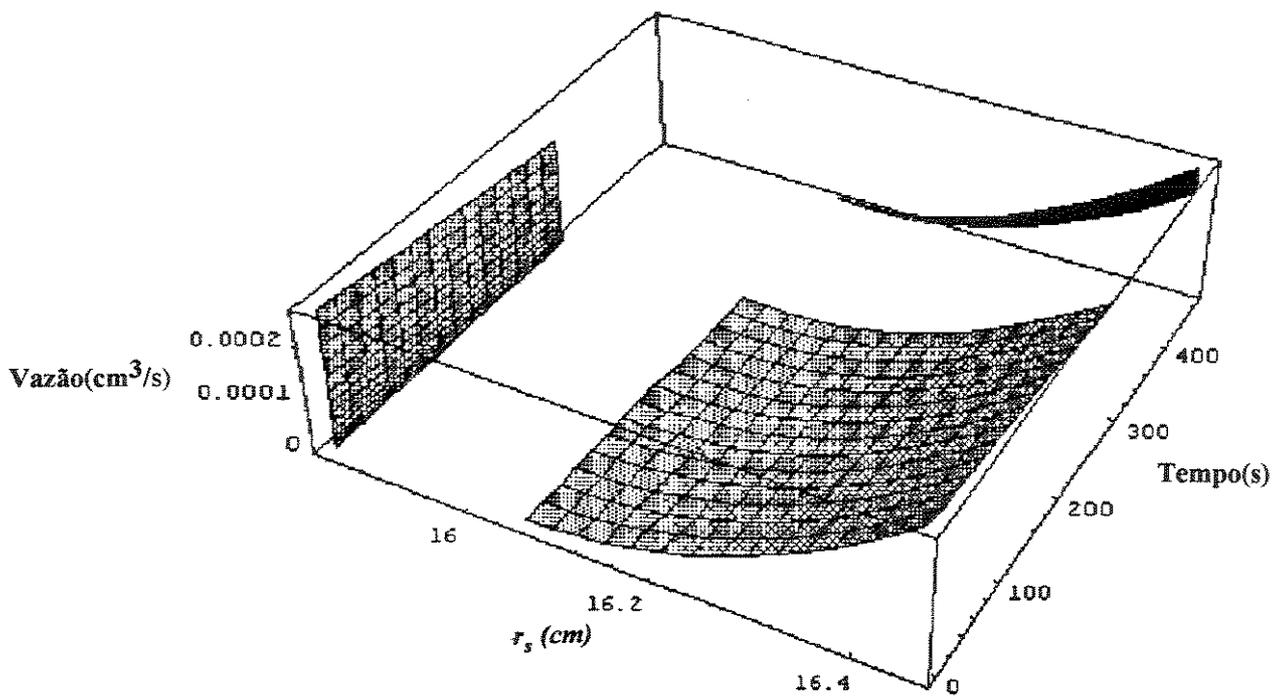


Figura 4.20: Vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para o experimento 4.

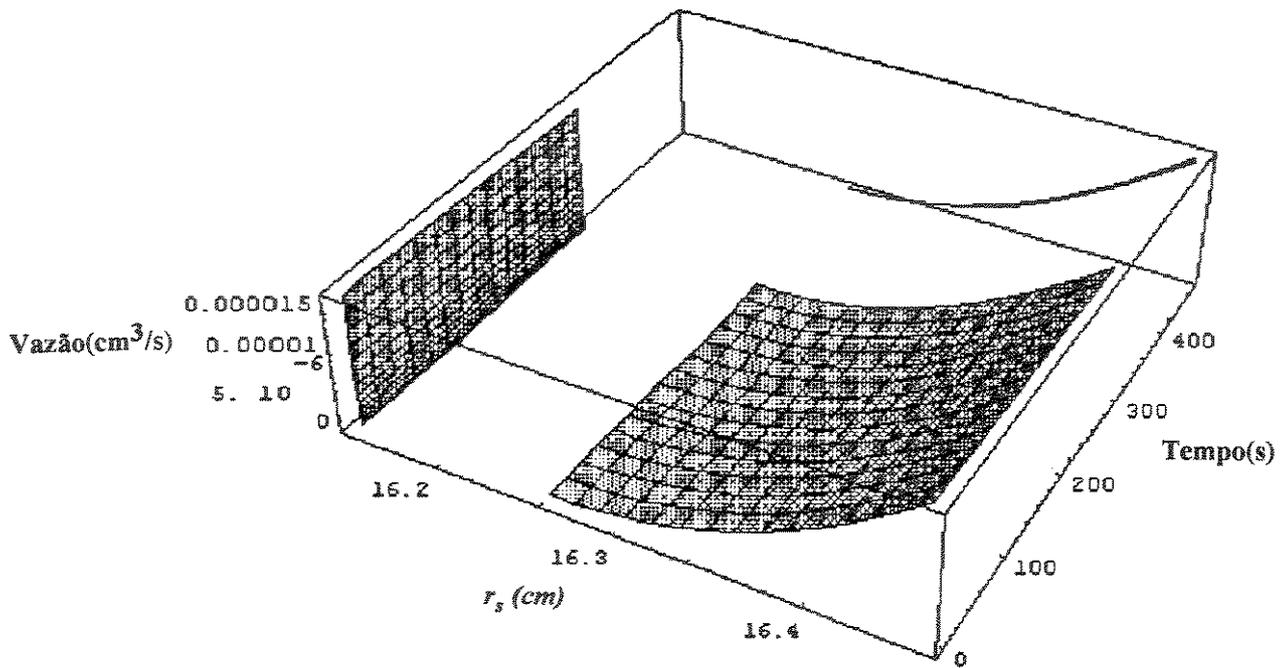


Figura 4.21: Vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para o experimento 5.

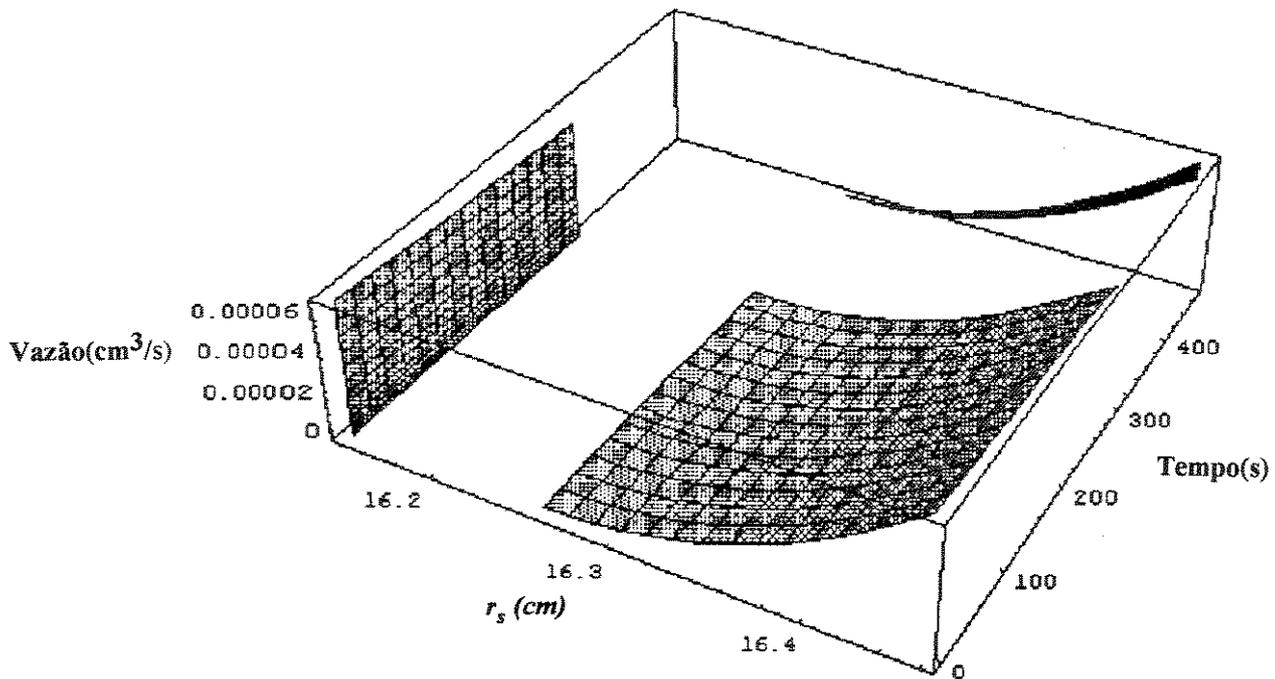


Figura 4.22: Vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para o experimento 6.

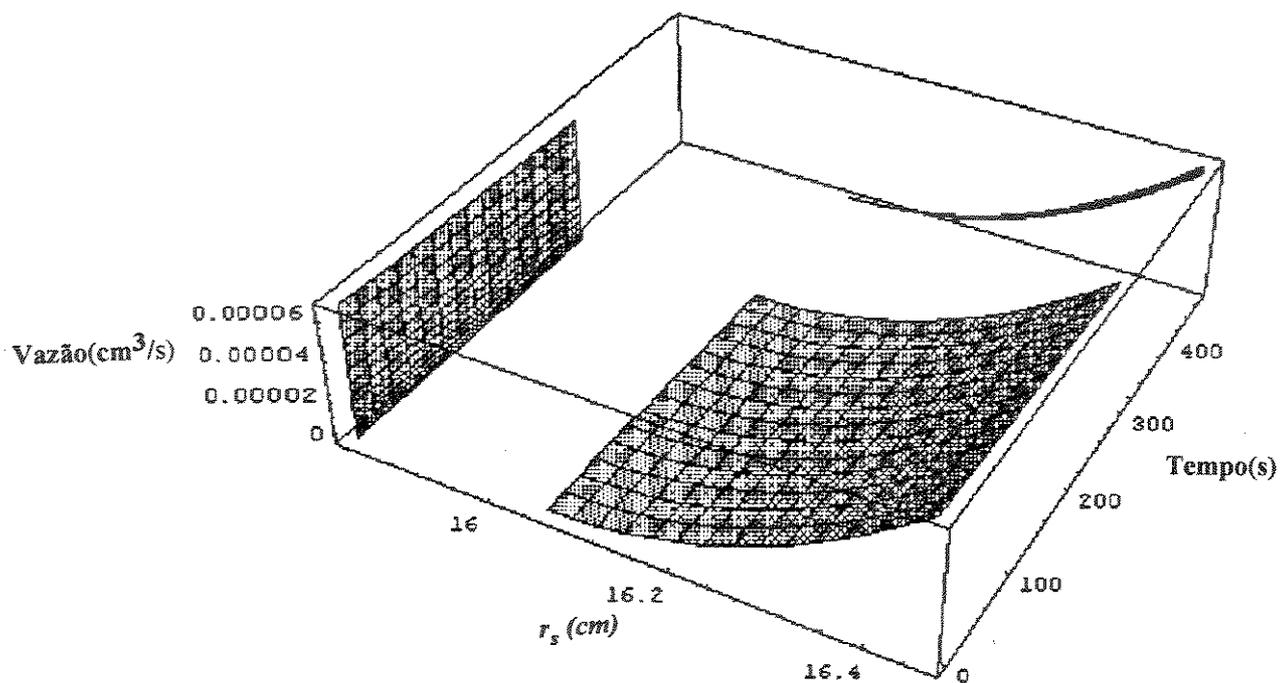


Figura 4.23: Vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para o experimento 7.

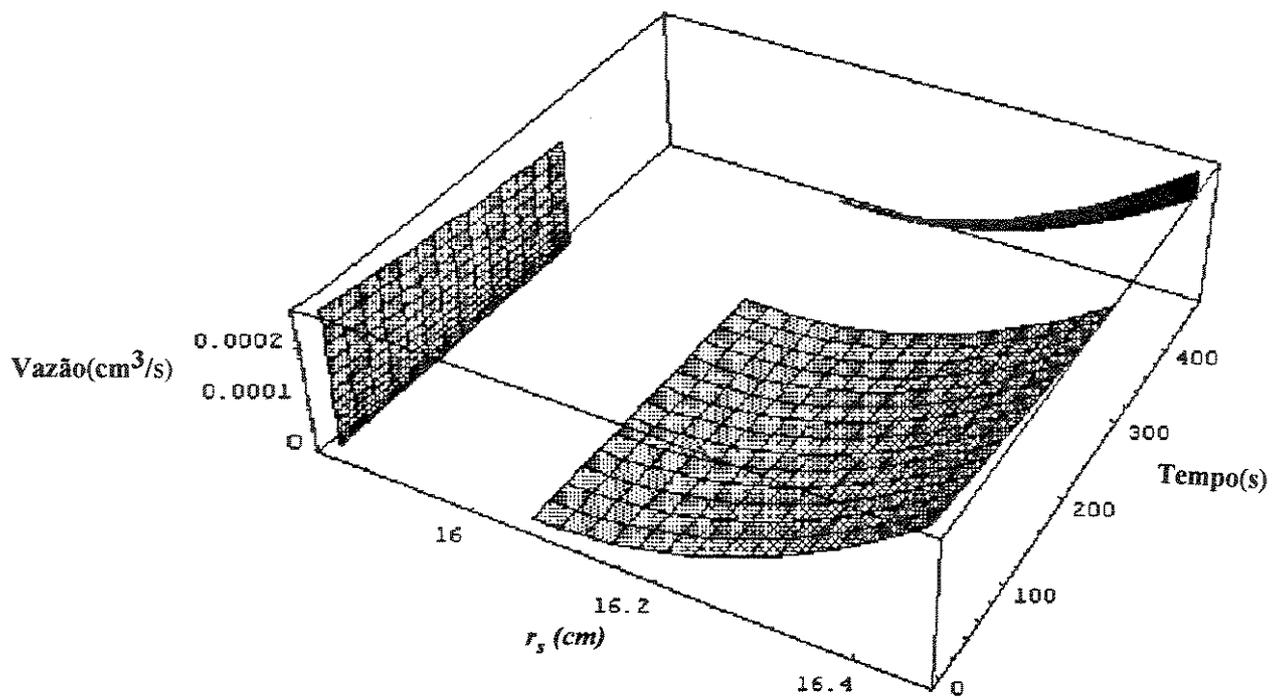


Figura 4.24: Vazão em função do tempo e da posição na zona de dextrana azul para o experimento 8.

Para obter a variação da concentração, anterior, em função do tempo devemos inicialmente calcular a massa de dextrana azul contida na primeira estria da estrutura dissipativa, pois todas estrias formadas irão parar nesta posição onde serão novamente adensadas para formar a estria seguinte e assim por diante até formar o padrão espacial da estrutura dissipativa, como dissemos no ítem(4.2) desta discussão.

A massa de dextrana azul é calculada da seguinte maneira:

Mede-se geometricamente a largura da estria. A sua espessura, dado que a estria não ocupa toda a espessura da cela de osmossedimentação, será obtida da fórmula de Einstein<sup>51</sup>.

$$\bar{x} = \sqrt{2Dt} \quad \text{eq.(4.25)}$$

onde  $D$  é o coeficiente de difusão da dextrana azul e  $t$  é o tempo necessário ao adensamento.

Assim, a espessura da estria é a distância média que uma molécula de dextrana azul difunde para o interior da solução, após ser arrastada pelo fluxo até a superfície da membrana. Portanto, quanto maior o tempo necessário ao adensamento maior será a espessura da estria.

O comprimento da estria é simplesmente a largura do compartimento do gradiente de densidade.

Conhecendo-se a densidade da estria, isto é, a densidade da posição onde ela parou no gradiente de densidade, podemos calcular sua concentração através da fórmula<sup>52</sup> abaixo:

$$C = \frac{\rho_{\text{solução}} - \rho_{\text{solvente}}}{1 - \rho_{\text{solvente}} v_1} \quad \text{eq.(4.26)}$$

onde  $v_1$  é o volume parcial específico do soluto.

Uma vez obtida a largura, a espessura, o comprimento e concentração da estria, podemos calcular a massa de dextrana azul contida na mesma. No passo seguinte devemos calcular o volume da região adensada que contém a massa de dextrana azul que originou a estria. Esse cálculo fornece a espessura da região adensada, pois sua largura e comprimento são

simplesmente a largura e o comprimento da estria. Procedendo desta maneira obtemos o volume da região adensada.

Em seguida devemos fazer o balanço de massa no volume obtido pelo método anterior. Tal balanço fornece:

$$V \frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial M_s}{\partial t} + DA \frac{\partial c}{\partial x} \quad \text{eq.(4.27)}$$

O primeiro termo do segundo membro da equação 4.27 é a taxa de aumento de massa da região adensada, pois como vimos no item 4.2.1 quanto maior o tempo necessário para o adensamento maior será a espessura da região adensada.

O segundo termo do segundo membro da equação 4.27 representa a perda de dextrana azul por difusão para o topo da coluna de solução do gradiente de densidade. Neste termo,  $\left(\frac{\partial c}{\partial x}\right)$  é a taxa de variação da concentração de dextrana azul em função da posição na coluna de solução do gradiente de densidade e  $A$  é a área da interface entre a região adensada e o topo da coluna de solução do gradiente de densidade, dada por:

$$A = \bar{x} \cdot l \quad \text{eq.(4.28)}$$

onde  $l$  é a largura da cela e  $\bar{x}$  a espessura da região em adensamento.

A taxa de variação da concentração em função da posição  $\left(\frac{\partial c}{\partial x}\right)$  que aparece no segundo termo do lado direito da equação 4.26 pode ser aproximada por:

$$\frac{\partial c}{\partial x} \approx \frac{c_1 - c_0}{\bar{x}} \quad \text{eq.(4.29)}$$

onde  $\bar{x}$  é a distância média percorrida pelas moléculas de dextrana azul que difundiram da região adensada para a coluna de solução do gradiente de densidade,  $c_1$  é a concentração de dextrana azul nesta posição e  $c_0$  é a

concentração inicial da região adensada, a qual, no início do experimento, é igual a concentração da zona de dextrana azul posta sobre o gradiente de densidade. Considerando-se que a concentração de dextrana azul ( $c_1$ ) na coluna de solução do gradiente de densidade é praticamente nula no início do experimento, podemos fazer a seguinte aproximação:

$$c_1 - c_0 \approx -c_0$$

logo a equação 4.29 pode ser escrita como:

$$\frac{\partial c}{\partial x} \cong \frac{-c_0}{\bar{x}} \quad \text{eq.(4.30)}$$

considerando também que a concentração  $c_0$  é independente do tempo, podemos rescrever a equação 4.26, como segue:

$$V \frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial m_s}{\partial t} - D I c_0 \quad \text{eq.(4.31)}$$

A aproximação anterior é bastante razoável pois o segundo membro do lado direito da equação 4.27 é aproximadamente  $10^4$  vezes menor do que o primeiro membro e o ganho em exatidão na modelagem do fenômeno, tratando  $c_0$  como variável, seria muito pequeno.

Considerando-se a solução de dextrana azul como ideal, podemos escrever o volume total da região adensada como:

$$V = n_s(t) \cdot v_s + n_{sl}(t) \cdot v_{sl} \quad \text{eq.(4.32)}$$

Na equação 4.31 podemos observar que se conhecermos a massa de dextrana azul a ser adensada em função do tempo e o volume da região em adensamento, o qual tende a aumentar com o aumento da massa de dextrana azul a ser adensada e a diminuir com a saída de água, podemos calcular a concentração em função do tempo na região anterior. Assim, podemos

escrever a seguinte expressão para a variação da concentração em função do tempo, na região em adensamento:

$$C(t) = \frac{m_s(t)}{n_s(t) \cdot v_s + n_{sl}(t) \cdot v_{sl}} \quad \text{eq.(4.33)}$$

onde:

$m_s$  = massa de dextrana azul em função do tempo

$n_s(t)$  = número de moles de dextrana azul em função do tempo

$v_s$  = volume parcial específico da dextrana azul

$n_{sl}(t)$  = número de moles de água em função do tempo

$v_{sl}$  = volume parcial específico da água

Vale lembrar que as concentrações obtidas na equação anterior podem ser facilmente convertidas em densidades através da equação 4.26.

Os valores das constantes utilizadas no modelo estão apresentadas abaixo:

$$L_p = 3 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s g}^{-1}$$

$$l = 3,5 \text{ cm}$$

$$v_s = 0,664 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$$

$$v_{sl} = 0,997 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$$

$$D = 1,8 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$$

Aplicamos o modelo para os experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de dextrana azul descritos na secção 3.2.5 e obtivemos para cada um deles a densidade da região adensada, isto é, a densidade em função do tempo da região próxima à base e junto à membrana, na zona de dextrana azul posta sobre o gradiente de densidade. Tais adensamentos estão apresentados nos gráficos abaixo, onde nas ordenadas temos a densidade crítica, isto é, a densidade da posição onde estria parou no gradiente de densidade, menos a densidade em função do tempo da região em adensamento.

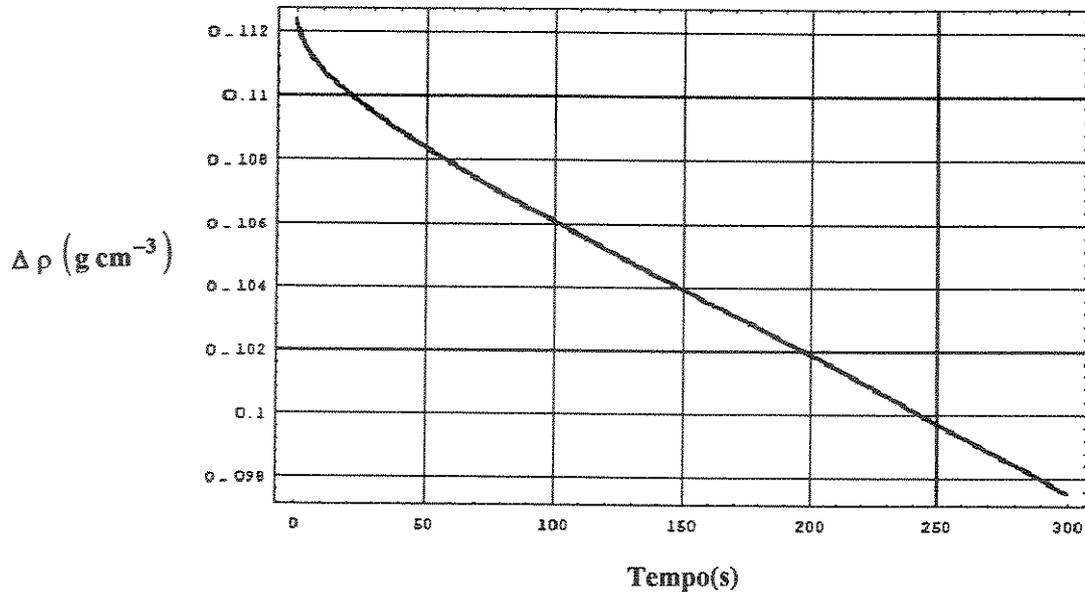


Figura 4.25: Densidade da região adensada em função do tempo, para o experimento 1.

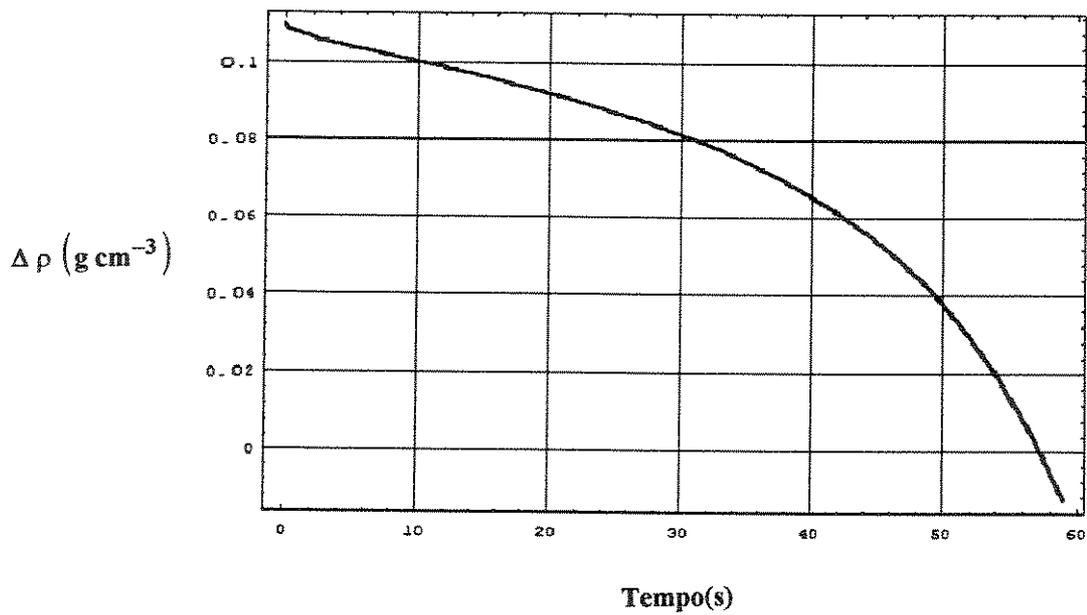


Figura 4.26: Densidade da região adensada em função do tempo, para o experimento 2.

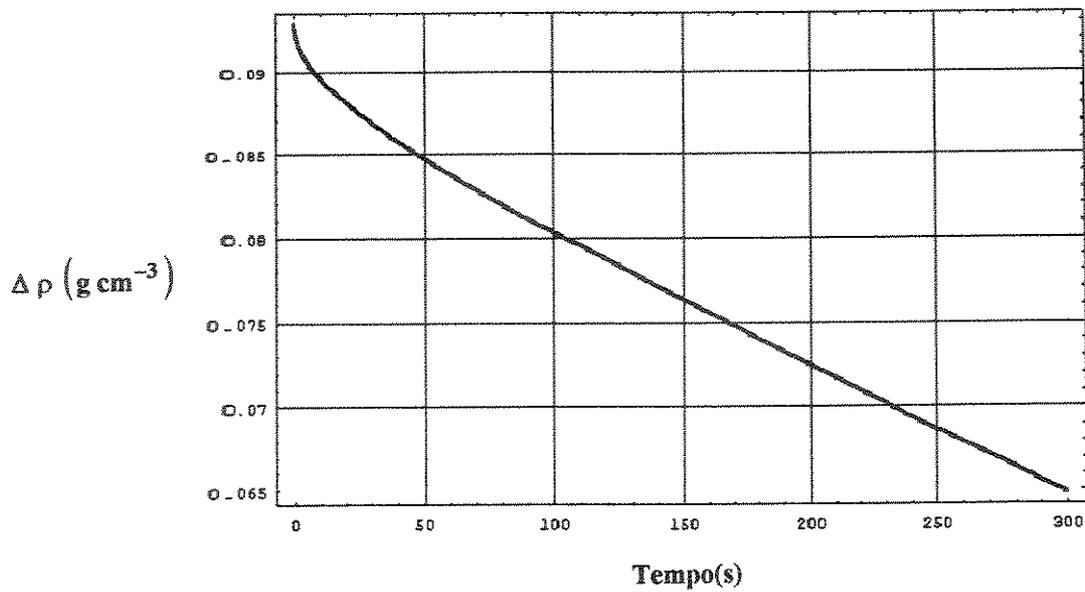


Figura 4.27: Densidade da região adensada em função do tempo, para o experimento 3.

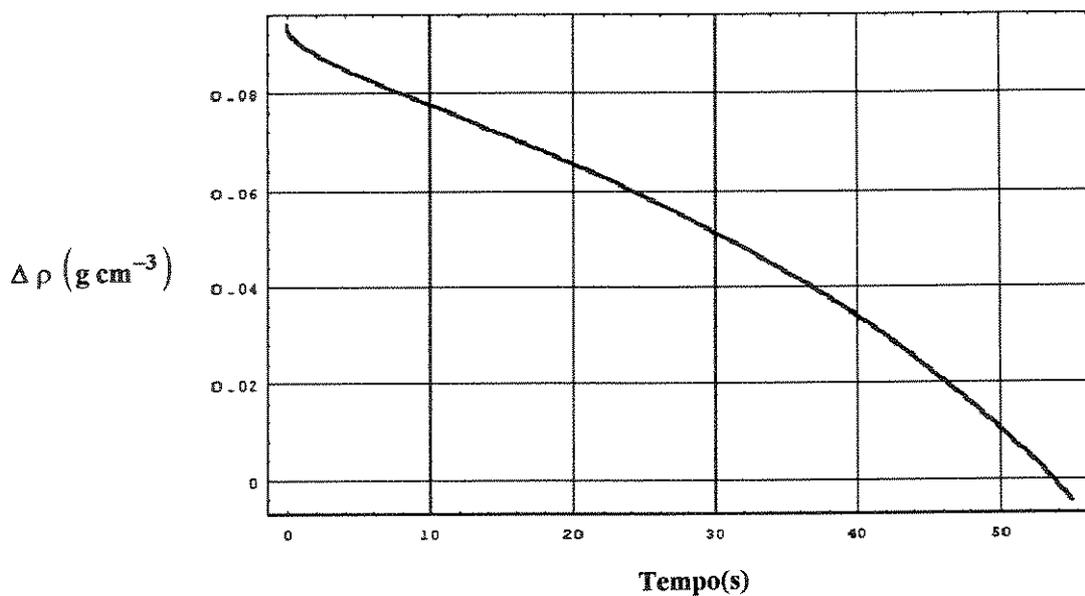


Figura 4.28: Densidade da região adensada em função do tempo, para o experimento 4.

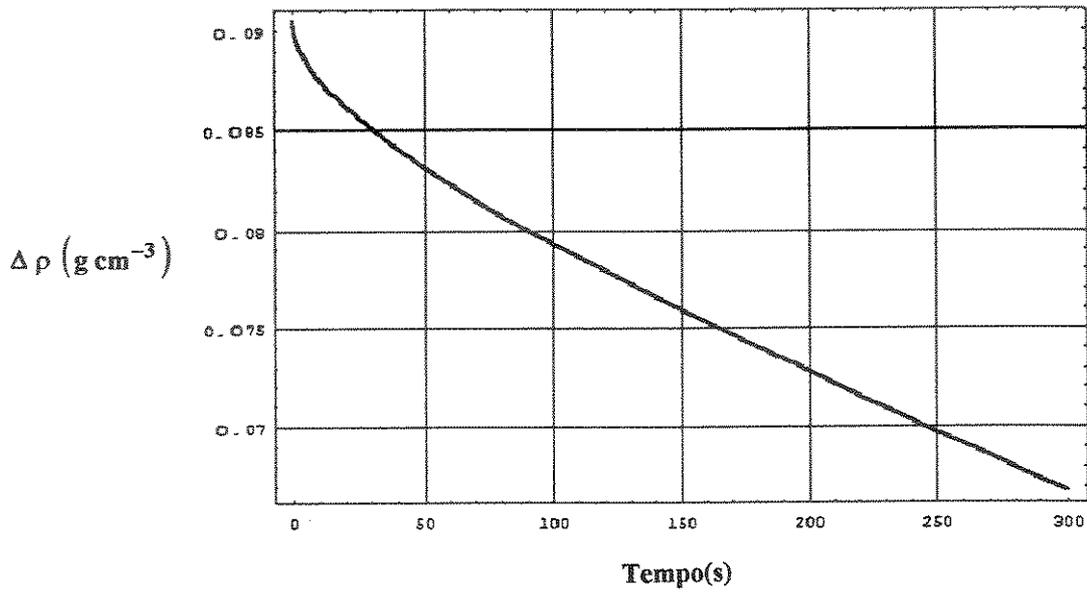


Figura 4.29: Densidade da região adensada em função do tempo, para o experimento 5.

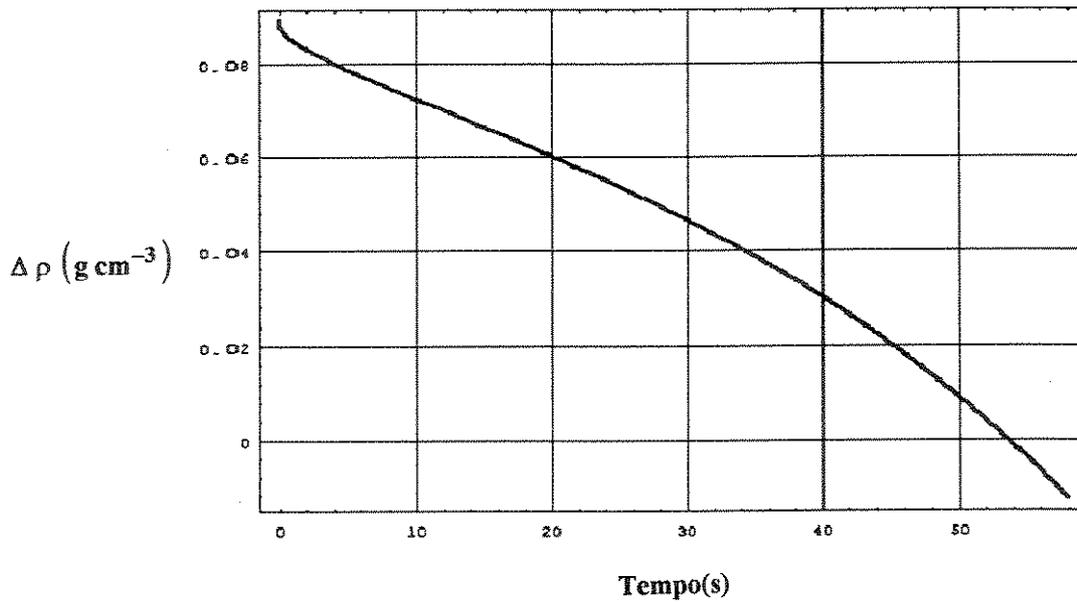


Figura 4.30: Densidade da região adensada em função do tempo, para o experimento 6.

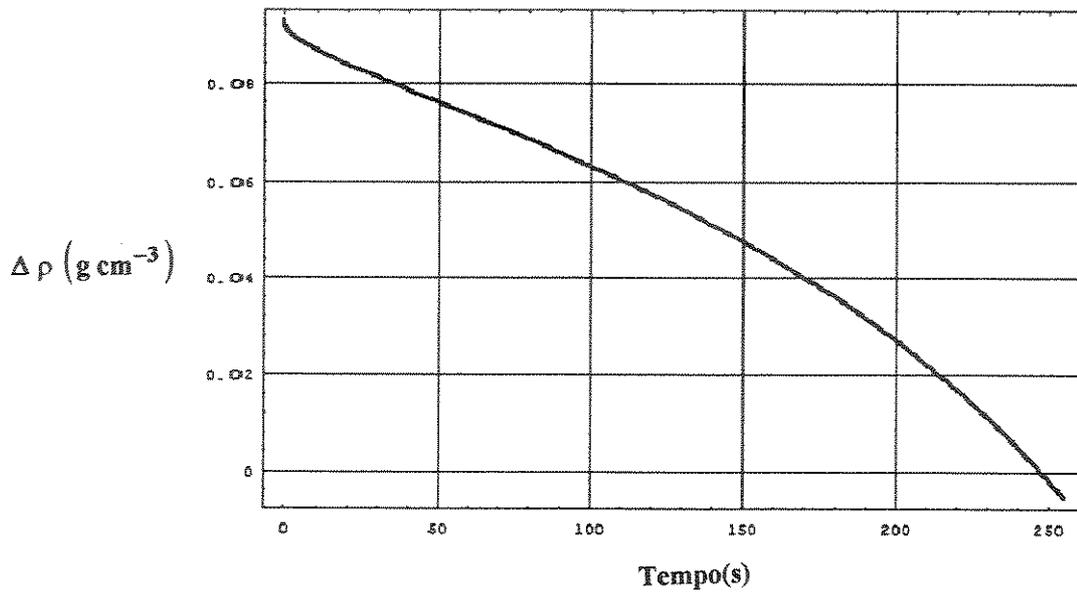


Figura 4.31: Densidade da região adensada em função do tempo, para o experimento 7.

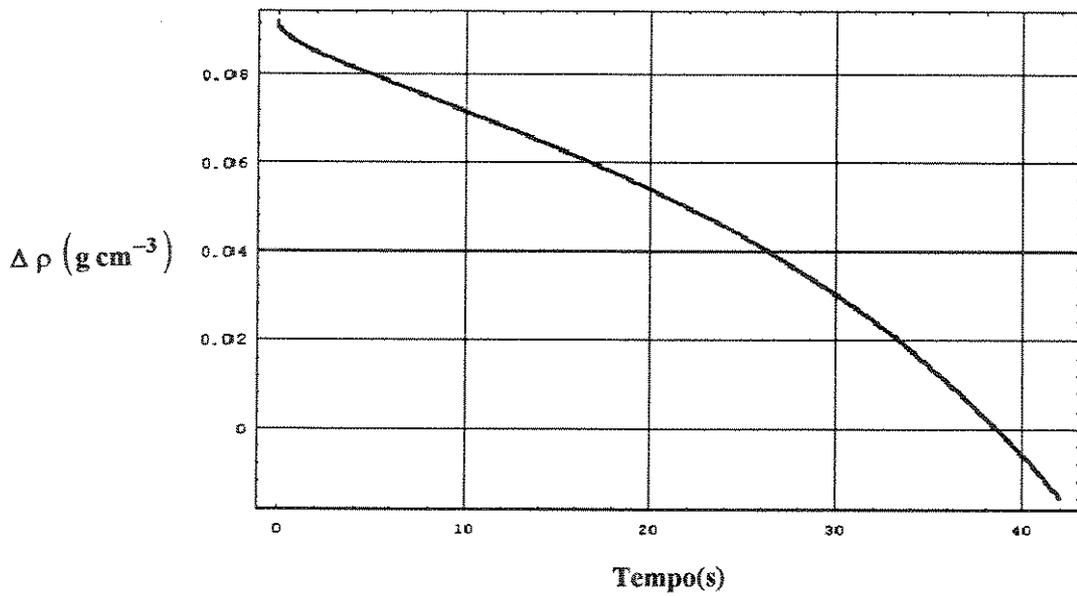


Figura 4.32: Densidade da região adensada em função do tempo, para o experimento 8.

Os gráficos anteriores fornecem o tempo necessário para a densidade da região em adensamento atingir a densidade crítica, na qual as estrias se formam. Quando as curvas, dos gráficos anteriores, cruzarem o eixo do tempo uma estria irá se formar, pois neste instante a densidade crítica foi atingida.

O número de estrias que irão se formar é obtido dividindo o tempo do experimento, isto é, o tempo de centrifugação até a primeira parada(5 min.), pelo tempo necessário à formação de uma estria.

Um programa de computador elaborado com o software Mathemática™ executa os cálculos de adensamento e traça os gráficos anteriores. Neste programa consideramos o efeito da remoção de soluto devido a formação de uma estria, no tempo de formação da estria seguinte. Como o aumento no tempo de formação da estria seguinte não foi significativo, as estrias podem ser bem representadas pelo tempo de formação da primeira. Todavia, para obtermos o número de estrias que irão se formar, apresentados na tabela(4.2) consideramos o efeito anterior.

**Tabela 4.2: Número de estrias observadas experimentalmente e número de estrias previstas pelo modelo para cada um dos experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de dextrana azul.**

<b>Experimento</b>	<b>Número de estrias observadas experimentalmente</b>	<b>Tempo calculado para a formação de uma estria (s)</b>	<b>Número de estrias previsto pelo modelo</b>
<b>1</b>	<b>0</b>	<b>&gt; 300</b>	<b>0</b>
<b>2</b>	<b>6</b>	<b>58</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>0</b>	<b>&gt; 300</b>	<b>0</b>
<b>4</b>	<b>6</b>	<b>53.8</b>	<b>5</b>
<b>5</b>	<b>0</b>	<b>&gt; 300</b>	<b>0</b>
<b>6</b>	<b>6</b>	<b>54</b>	<b>5</b>
<b>7</b>	<b>1</b>	<b>248</b>	<b>1</b>
<b>8</b>	<b>6</b>	<b>39</b>	<b>7</b>

### 4.3.1 Número adimensional para a formação de estrias

Podemos caracterizar o início do processo de formação de estrias através de um número adimensional, analogamente ao que é feito no experimento de Bénard. Para obtermos tal número devemos obter a razão entre a força motriz e os efeitos dissipativos no processo.

A força motriz para a formação de estrias é o peso aparente da região adensada, dado por:

$$P_A(t) = V(t) \omega^2 r [\rho_1(t) - \rho_2] \quad \text{eq.(4.34)}$$

onde

$$V(t) = n_s(t) v_s + n_{sl}(t) v_{sl} \quad \text{eq.(4.35)}$$

substituindo a equação 4.34 na equação 4.33, obtemos

$$P_A = [n_s(t) v_s + n_{sl}(t) v_{sl}] \cdot \omega^2 \cdot r \cdot [\rho_1(t) - \rho_2] \quad \text{eq.(4.36)}$$

onde

$\rho_1(t)$  = é a densidade da região em adensamento

$\rho_2$  = densidade do topo do gradiente de densidade

A força dissipativa para o processo é produto da viscosidade do topo do gradiente( $\eta$ ) pelo coeficiente de difusão da dextrana azul na solução do topo do gradiente de densidade. Fazendo a razão entre a força motriz e o produto dos termos dissipativos obtemos:

$$R_a = \frac{[n_s(t) v_s + n_{sl}(t) v_{sl}] \cdot \omega^2 \cdot r \cdot [\rho_1(t) - \rho_2]}{\eta D} \quad \text{eq.(4.37)}$$

Quando o numerador da equação anterior se igualar ao denominador a região em adensamento torna-se instável podendo, às custas de uma flutuação qualquer, iniciar a formação de estrias. Alternativamente ao método anterior, podemos dizer que atingimos o número crítico quando:

$$[n_S(t) v_S + n_{Sl}(t) v_{Sl}] \cdot \omega^2 \cdot r \cdot [\rho_1(t) - \rho_2] - \eta D = 0 \quad \text{eq.(4.38)}$$

No gráfico da figura 4.33 temos na ordenada o primeiro membro da equação anterior e na abscissa o tempo.

Através do gráfico da figura 4.33 obtemos o tempo necessário para o sistema atingir o número crítico. O número crítico é atingido quando a curva do gráfico anterior cruzar o eixo do tempo. Assim, toda vez que o número crítico for atingido uma estria irá se formar.

Todavia, mais importante que o valor numérico que pode ser obtido para o tempo necessário à formação de uma estria é a boa relação funcional da equação para o número adimensional, a qual nos dá uma visão geral das variáveis envolvidas e da interação destas no processo de formação de estruturas dissipativas em osmossedimentação.

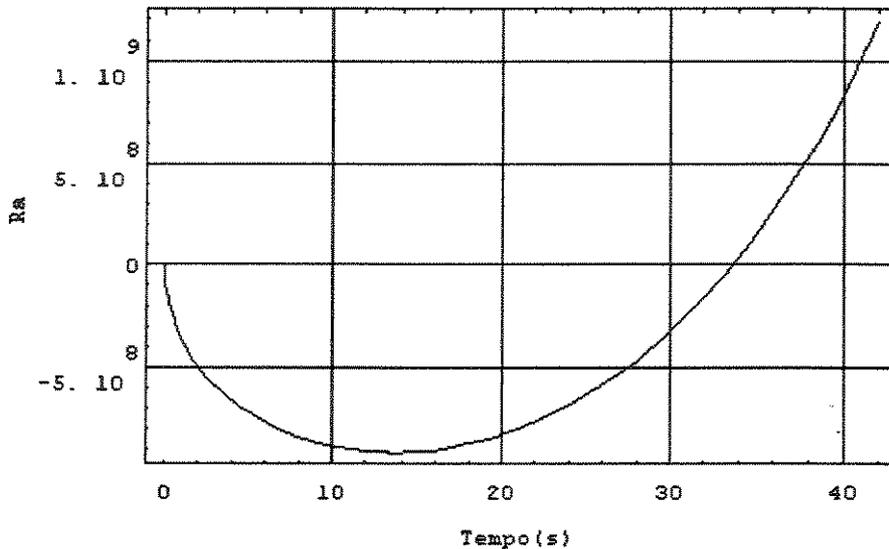


Figura 4.33: Gráfico do tempo necessário para se atingir o número crítico, utilizando os dados do experimento oito do plano fatorial.

Utilizando a equação 4.38, podemos prever além do número estrias, a densidade da estria que irá se formar sem nenhuma informação sobre estrias já formadas. Para isto, basta relaxar o vínculo entre a espessura da região adensada e a espessura de uma estria já formada. Tal procedimento daria ao modelo maior poder de previsão com uma dependência menor dos dados experimentais.

Cálculos preliminares indicam que o método anterior é realmente um bom caminho para se prever o número e a densidade das estrias que possam se formar. Todavia, tais cálculos necessitam ser melhor elaborados e não serão apresentados nesta tese.

### 4.3.2 Efeito da geometria da cela

Em alguns experimentos observamos que as estrias formadas apresentam uma quantidade maior de solução junto as paredes laterais da cela de osmossedimentação, como indicado através das setas na figura 3.15.

Tal acumulo ocorre porque as estrias se formam em um campo de simetria circular e portanto seu movimento pelo gradiente de densidade será radial, isto é, perpendicular as isóbaras da figura 4.8, como ilustrado na figura 4.34.

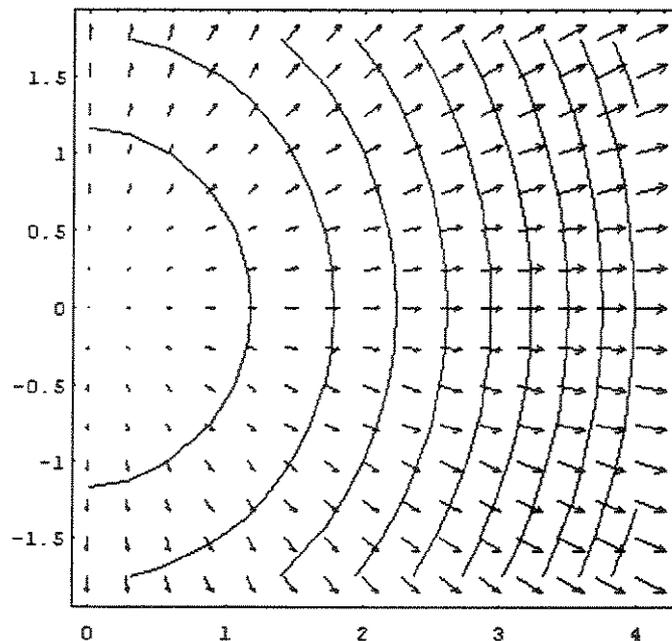


Figura 4.34: representação do movimento radial das estrias pelo gradiente de densidade na cela de osmossedimentação.

Como o movimento da estria é radial e as paredes laterais da cela são paralelas haverá acúmulo de solução nestas. Tal acúmulo será tanto maior quanto maior for o campo centrífugo e/ou a largura da cela. Para se eliminar o acúmulo, basta construir-se uma cela de osmossedimentação em forma de setor.

## 5. Conclusões

Verificamos que a formação de estrias em experimentos de osmocentrifugação zonal de soluções concentradas de dextrana azul ocorre quando o campo centrífugo é alto.

Elaboramos um modelo hidrodinâmico para a formação de estrias. Os resultados previstos pelo modelo apresentaram boa concordância com os resultados experimentais, indicando que o mesmo é realístico.

O modelo desenvolvido sugere que a formação de estrias depende do coeficiente de difusão do soluto macromolecular, indicando a possibilidade de se desenvolver um filtro que separe solutos através das diferenças nos seus coeficientes de difusão. Neste filtro, solutos com menor coeficiente de difusão seriam adensados mais rápido, sendo separados dos demais pela convecção da camada adensada.

A dependência do coeficiente de difusão indica que em gradientes de densidade gerados por osmossedimentação as frações inferiores devem ser mais ricas em solutos de maior peso molecular, pois estes possuem menor coeficiente de difusão.

# Apêndice A

## Elementos de teoria da estabilidade

Devemos encarar o fato de que é usualmente muito difícil ou impossível obter a solução analítica de uma dada equação diferencial em uma forma explícita e razoavelmente conveniente, especialmente se a equação for não-linear. Assim, devemos considerar métodos que permitam obter informações qualitativas sobre a solução de tais equações diferenciais, principalmente as não lineares, sem realmente resolver as equações. Geralmente, pode-se obter um grande número de informações sobre o comportamento da solução fazendo-se uma análise da estabilidade da equação diferencial em questão. Para tanto utilizaremos argumentos basicamente geométricos que praticamente eliminam deduções puramente matemáticas, nas quais, muitas vezes os fins se confundem com os meios<sup>60</sup>.

Para ilustrar algumas das idéias na sua forma mais simples, considere a equação não linear de primeira ordem:

$$\frac{dA}{dt} = \varepsilon A - \sigma A^2 \quad \text{eq.(A.1)}$$

com a condição inicial

$$A(0) = A_0 \geq 0$$

onde  $\varepsilon$  e  $\sigma$  são inteiros positivos.

A equação A.1 aparece em muitas aplicações diferentes. Todavia faremos a análise da equação A.1 tendo em mente sua aplicação em ecologia, pois esta é uma situação de fácil visualização. Em ecologia a eq.(A.1) representa o crescimento populacional de uma única espécie com acesso a recursos limitados, onde  $A$  é o tamanho da população no tempo  $t$ .

Se desprezarmos o termo não linear na equação A.1, a população crescerá exponencialmente com o tempo.

A situação será completamente diferente se mantivermos o termo não linear. Neste caso, se  $A = 0$  ou se  $A = \varepsilon / \sigma$ , o segundo membro da equação A.1 se anula. Assim, temos duas soluções constantes  $A = \phi_1(t) = 0$  e  $A = \phi_2(t) = \varepsilon \sigma^{-1}$ . Estas duas soluções, de grande importância, são chamadas de pontos críticos ou pontos de equilíbrio pois nestes pontos  $dA/dt = 0$ . Considerando que  $A \neq 0$  e  $A \neq \varepsilon \sigma^{-1}$ , podemos escrever a equação A.1 na forma

$$\frac{dA}{A(\varepsilon - \sigma A)} = dt \quad \text{eq.(A.2)}$$

Para resolvermos a equação A.2 basta integrar os dois membros, obtendo:

$$\ln|A| - \ln|\varepsilon - \sigma A| = \varepsilon t + K$$

onde  $K$  é uma constante de integração a ser escolhida de modo que a condição inicial seja satisfeita. Os casos  $0 < A_0 < \varepsilon \sigma^{-1}$  e  $A_0 > \varepsilon \sigma^{-1}$  devem ser considerados separadamente, posto que o sinal de  $(\varepsilon - \sigma A)$  é diferente nos intervalos  $0 < A < \varepsilon \sigma^{-1}$  e  $A > \varepsilon \sigma^{-1}$ . Apesar disto, pode-se expressar o resultado final em uma única fórmula. Omitindo diversos passos algébricos, obtemos:

$$A = \phi(t) = \frac{\varepsilon}{\sigma + \left[ \frac{(\varepsilon - \sigma A_0)}{A_0} \right] e^{-\varepsilon t}} \quad \text{eq.(A.3)}$$

Apesar da fórmula anterior não ser válida para  $A_0 = 0$ , ela contém a solução constante  $A = \phi_2(t) = \varepsilon \sigma^{-1}$  correspondente a  $A_0 = \varepsilon \sigma^{-1}$ . Como  $\varepsilon > 0$  temos que  $\exp(-\varepsilon t) \rightarrow 0$  quando  $t \rightarrow \infty$ . Na figura A.1 apresentamos diversas curvas típicas para diferentes valores de  $A_0$  bem como as soluções constantes.

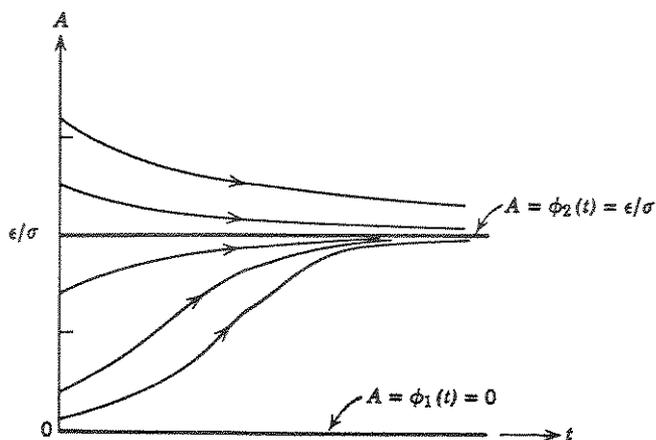


Fig.(A.1): População em função do tempo para diferentes valores de  $A_0$ .

Para  $A_0$  suficientemente pequeno a curva é sigmóide. Em ecologia o termo  $\varepsilon \sigma^{-1}$  é chamado de nível de saturação ou capacidade carreadora total; uma população começando abaixo deste nível não pode superá-lo.

Fica claro da equação A.1 que qualquer solução começando em um ponto inicial  $A_0 > 0$  se aproxima finalmente da solução  $A = \phi_2(t) = \varepsilon \sigma^{-1}$  quando  $t \rightarrow \infty$ . Este comportamento limite é o tipo de informação qualitativa que frequentemente é de interesse. Neste exemplo a obtivemos solucionando primeiro a equação diferencial, mas é importante para problemas mais difíceis que o comportamento limite possa ser determinado sem o conhecimento prévio das soluções.

Para demonstrar isto no presente problema vamos colocar em gráfico  $\frac{dA}{dt}$  como função de  $A$ , dado pela equação A.1. O gráfico é uma parábola com  $\frac{dA}{dt} = 0$  em  $A=0$  e em  $A = \epsilon \sigma^{-1}$ , conforme ilustrado na figura A.2

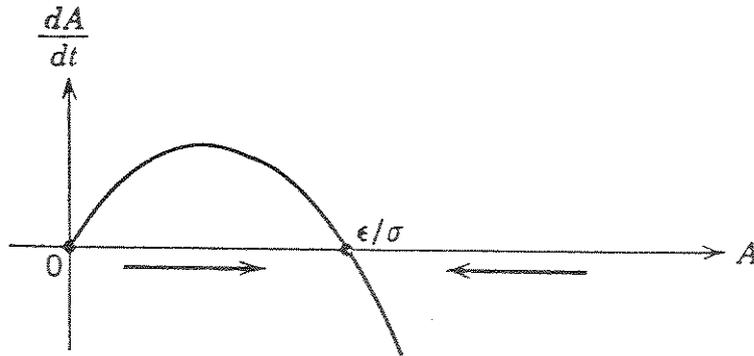


Fig.(A.2): Taxa de crescimento da população em função da população.

Se  $0 < A < \epsilon \sigma^{-1}$ , então  $\frac{dA}{dt} > 0$  e  $A$  cresce até atingir o valor  $\epsilon \sigma^{-1}$ . Por outro lado, se  $A > \epsilon \sigma^{-1}$  então  $\frac{dA}{dt} < 0$  e  $A$  decresce para  $\epsilon \sigma^{-1}$ . Como observamos,  $A$  sempre tende para a solução  $A = \phi_2(t) = \epsilon \sigma^{-1}$ , desde que o valor inicial  $A_0 > 0$ .

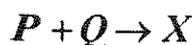
Examinaremos a solução  $A = \phi_1(t) = 0$  com mais detalhe. Se  $A_0 = 0$  for a entrada, então a saída será  $A = 0$ . Mas suponha que se cometa um pequeno erro, e a entrada seja um valor pequeno mas não nulo de  $A_0$ . A questão é saber se a saída permanece próxima de  $A = 0$ . É óbvio, da figura A.1, que não. Ao invés disso,  $A \rightarrow \epsilon \sigma^{-1}$  quando  $t \rightarrow \infty$ . Assim, é natural dizer que a solução  $A = \phi_1(t) = 0$  é uma *solução instável* da equação A.1 ou que ela é um *ponto crítico instável*.

Considere agora que a solução  $A = \phi_2(t) = \varepsilon \sigma^{-1}$ , com a entrada  $A_0 = \varepsilon \sigma^{-1}$ . Se cometermos um pequeno erro na entrada, a saída se aproximará de  $\varepsilon \sigma^{-1}$  assintoticamente, quando  $t \rightarrow \infty$ . Assim dizemos que a solução  $A = \phi_2(t) = \varepsilon \sigma^{-1}$  é uma *solução assintoticamente estável*.

Segue-se uma interpretação ecológica destes dois casos. Primeiro, suponha que tentemos realizar uma experiência livre de bactérias em um ambiente onde o crescimento bacteriano é descrito pela equação A.1. Após considerável esforço reduz-se a população a um nível extremamente baixo, mas não nulo. É seguro prosseguir a experiência considerando que a população bacteriana permanecerá muito baixa? Não; o nível inicial é diferente de zero, e o número de bactérias crescerá a medida que o tempo aumenta. Segundo, suponha que tentemos realizar um experimento com o nível bacteriano de aproximadamente  $\varepsilon \sigma^{-1}$ , mas que de tempo em tempo introduz-se contaminantes que matam algumas bactérias. É possível que isto leve a população a continuar decrescendo e eventualmente a se extinguir? Não, se deslocarmos a população bacteriana levemente abaixo de  $\varepsilon \sigma^{-1}$  ela crescerá de volta para  $\varepsilon \sigma^{-1}$  e se deslocarmos levemente acima de  $\varepsilon \sigma^{-1}$  ela decrescerá para  $\varepsilon \sigma^{-1}$ .

## A.2 Aplicação em cinética química

A seguir aplicaremos o método delineado na secção anterior para a reação química de segunda ordem:



com a seguinte equação de velocidade

$$\frac{dx}{dt} = \alpha (P - x)(Q - x) \quad \text{eq.(A.4)}$$

com a condição inicial

$$x(t) = 0 \quad e \quad P \neq Q$$

vamos colocar em gráfico  $\frac{dx}{dt}$  como função de  $x$ , dado pela equação A.4

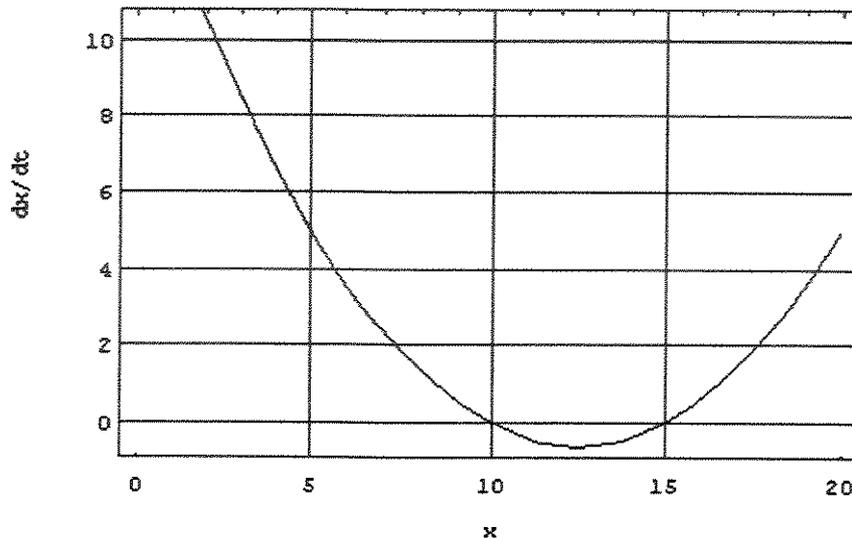


Fig.(A.3): Taxa de variação da concentração da espécie X em função da concentração da espécie X.

Do gráfico anterior observamos que  $\frac{dx}{dt} = 0$  em  $x = P$  e  $x = Q$ . Se

$P < x < Q$  então  $\frac{dx}{dt} < 0$ . Observamos que a solução  $x(t) = 0$  é instável pois se por qualquer flutuação  $x$  for levemente maior que zero, a concentração de  $x$  crescerá até seu valor limite  $x = P$ . Assim  $x(t) = 0$  é uma solução instável da equação A.4 e  $x(t) = P$  é uma solução assintoticamente estável ou de equilíbrio.

Obviamente utilizamos uma reação muito simples para ilustrar o método, porém o mesmo será muito útil em reações mais complexas.

### A.3 Aplicação a convecção de Rayleigh-Bénard

Aplicaremos o método geométrico anterior nas vizinhanças do número de Rayleigh crítico ( $R_c$ ), isto é, quando o fluxo convectivo está prestes a se iniciar. O método anterior quando aplicado ao sistema convectivo de Bénard, recebe o nome de método perturbativo de Landau.

Sem entrar no desenvolvimento matemático, a equação que descreve a evolução de uma perturbação na posição de uma parcela de fluido, nas vizinhanças do número de Rayleigh crítico, é dada por:

$$\frac{dx}{dt} = (R - R_c)x - x^3 \quad \text{eq.(A.5)}$$

Obtida a equação diferencial anterior podemos aplicar o método geométrico nas seguintes situações:

a)  $R_c > R$

No gráfico da figura (A.4), podemos observar que a única solução é a solução de equilíbrio  $x = 0$ , a qual é estável a qualquer perturbação.

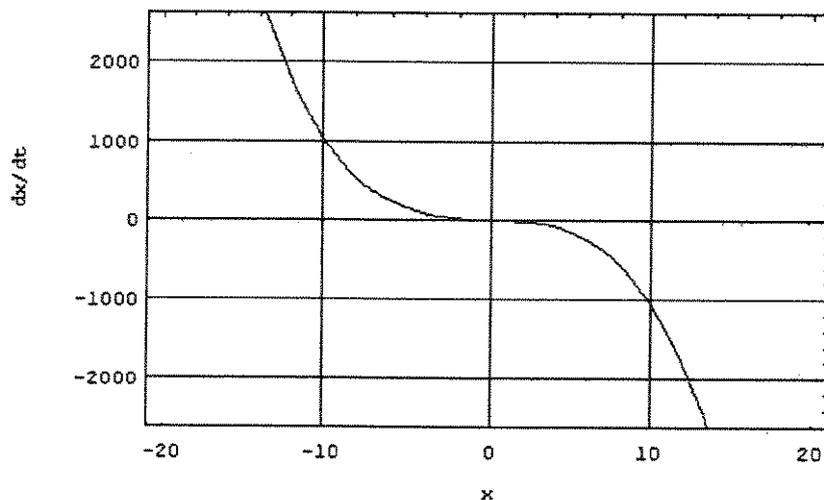


Fig.(A.4): Taxa da perturbação em função do valor da perturbação.

b)  $R_c \leq R$

Podemos observar no gráfico da figura (A.5) abaixo, que existem três soluções de equilíbrio

$$x = 0$$

$$x = +\sqrt{(R - R_c)}$$

$$x = -\sqrt{(R - R_c)}$$

A primeira delas é *instável* e as outras duas são *estáveis*. As soluções  $x = \pm\sqrt{(R - R_c)}$  indicam que, ao iniciar-se o fluxo convectivo, o sentido de rotação das celas poderá ser horário ou anti-horário. A escolha de um deles será feita por uma flutuação em  $x$ .

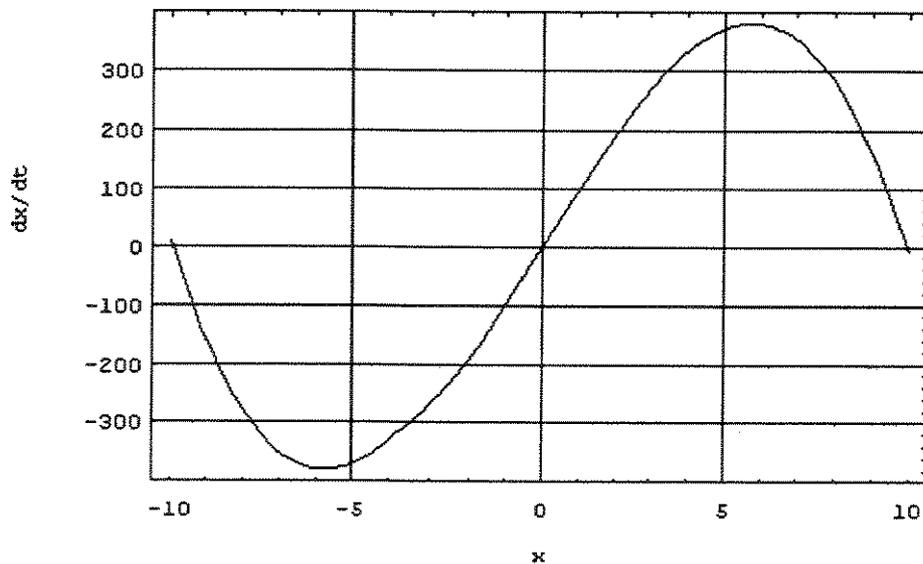


Fig.(A.5): Evolução da perturbação em função da perturbação.

O ponto  $R = R_c$  é chamado de ponto de bifurcação. Para  $R < R_c$  observamos que a solução  $x = 0$  é estável. Todavia, esta solução perde sua estabilidade quando  $R$  torne-se maior que  $R_c$  e as novas soluções estáveis são  $x = \pm\sqrt{(R - R_c)}$ . Devido à possibilidade de se ter uma de duas soluções esta situação é chamada de bifurcação.

O tratamento perturbativo anterior evolui em duas etapas. Primeiro obtém-se, por expansão, as equações hidrodinâmicas para o início da convecção. A obtenção de tais equações, por expansão, envolve uma série de etapas não triviais que não serão apresentadas aqui. Segundo, estuda-se a estabilidade das equações obtidas através do método perturbativo.

O método geométrico apresentado nos itens anteriores, foi desenvolvido para sistemas descritos por uma equação diferencial, porém sua extensão para sistemas descritos por várias equações diferenciais simultâneas pode ser feita com razoável facilidade.

## 6. Bibliografía

- [1] G. Nicolis, "Self-Organization in Nonequilibrium Systems", in: P. Davies (Ed.), "The New Physics", Cambridge, 1990.
- [2] I. Prigogine, "Introduction to Thermodynamics of Irreversible Process", 3rd ed., John Wiley & Sons, 1967.
- [3] S. R. Groot, P. Mazur, "Non-Equilibrium Thermodynamics", North-Holland, 1969.
- [4] K. E. Van Holde, "Bioquímica Física", Edgard Blücher, 1975.
- [5] B. H. Callen, "Thermodynamics and an Introduction to Thermostatistics", 2nd ed., John Wiley & Sons, 1970.
- [6] A. Katchalsky, P. Curran, "Nonequilibrium Thermodynamics in Biophysics", 4th ed., Harvard, 1975.
- [7] S. P. Nunes, F. Galembeck, "Osmosedimentation: A Study Using the Linear Approximation of Non-Equilibrium Thermodynamics", *Journal of Non-equilibrium Thermodynamics*, 12:205-212, 1987.
- [8] D. G. Miller, "Thermodynamics of Irreversible Process: The Experimental Verification of the Onsager Relations", *Chemical Reviews*, 60:15-35, 1960.
- [9] G. Nicolis, "Dissipative Instabilities, Structure and Evolution", *Advances in Chemical Physics*, 29:29-45, 1975.
- [10] W. J. Moore, "Físico-Química", Edgard Blücher, 1976.

- [11] I. Prigogine, P. Glansdorff, "Thermodynamic Theory of Structure, Stability and Fluctuations", 2nd ed., John Wiley & Sons, 1970.
- [12] R. M. Noyes, J. R. Field, "Oscillation in Chemical Systems. V. Quantitative Explanation of Band Migration in Belousov-Zhabotinskii Reaction", *Journal of the American Chemical Society*, **97**:2001-2006, 1974.
- [13] J. J. Tyson, P. C. Fife, "Target Patterns in a Realistic Model of Belousov-Zhabotinskii Reaction", *Journal of Chemical Physics*, **73**:2224-2237, 1980.
- [14] S. Kai, S. C. Muller, J. J. Ross, "Measurements of Temporal and Spatial Sequences of Events in Periodic Precipitation Process", *Journal of Chemical Physics*, **76**:1392-1406, 1982.
- [15] M. G. Velarde, C. Normand, "Convection", *Scientific American*, **243**:78-94, 1980.
- [16] C. Normand, Y. Pomeau, M. G. Velarde, "Convective Instability: a Physicist's Approach", *Reviews of Modern Physics*, **49**:581-624, 1977.
- [17] M. U. Kleinke, "Turbulência Interfacial em Filmes Coloidais", Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Física, 1989.
- [18] G. Nicolis, "Bifurcations and Symmetry Breaking in Far-from-Equilibrium Systems: Toward a Dynamics of Complexity", *Advances in Chemical Physics*, **55**:177-200, 1990.
- [19] G. Nicolis, I. Prigogine, "Self-Organization in Non-Equilibrium Systems", John Wiley & Sons, 1977.
- [20] S. K. Scott, "Chemical Chaos", Oxford, 1991.

- [21] J. Gleick, "A Criação de uma Nova Ciência", Campus, 1990.
- [22] G. Nicolis, "Dissipative Instabilities, Structure and Evolution", *Advances in Chemical Physics*, **29**:29-45, 1975.
- [23] I. Stengers, I. Prigogine, "Order Out of Chaos", Flamingo, 1984.
- [24] J. Ross, S.C. Müller, C. Vidal, "Chemical Waves", *Science*, **240**:460-465, 1988.
- [25] J. P. Gollub, G. L. Baker, "Chaotic Dynamics", Cambridge, 1990.
- [26] F. Galembeck, P. R. Robilotta, E. A. Pinheiro, I. Joekes, N. Bernardes, "Rapid Sedimentation under Gravity. Basic Theory and Experimental Demonstration", *Journal of Physical Chemistry*, **84**:112-115, 1980.
- [27] C. Rodrigues, M. A. Tenan, F. Galembeck, "A Hydrodynamic Approach to Osmosedimentation Process", *Journal of Non-equilibrium Thermodynamics*, **19**:157-159, 1994.
- [28] E. A. Pinheiro, "Sedimentação Acelerada por Acoplamento Osmótico: Verificação Experimental e Modelo Teórico", Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, Instituto de Química, 1982.
- [29] P. C. Hiemenz, "Principles of Colloid and Surface Chemistry", Marcel Dekker, 1977.
- [30] C. A. Price, "Centrifugation in Density Gradients", Academic, 1982.
- [31] J. M. Moita Neto, "Caracterização de Látex Poliestirênicos por Centrifugação em Gradiente de Densidade", Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 1994.

- [32] A. L. Herzog, "Síntese e Caracterização de Látex Copoliméricos de Poli[estireno-Co-(Metacrilato de Butila)]", Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 1994.
- [33] M. C. P. Costa, A. Ad. W. Hechenleitner, S. P. Nunes, F. Galembeck, "Osmosedimentation in Density Gradients", in: B. Sedláček, J. Kahovec (Eds.), "Synthetic Polymeric Membranes", Walter de Gruyter, 1986.
- [34] M. C. P. Costa, "Centrifugação e Osmocentrifugação em Gradientes de Densidade", Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 1988.
- [35] N. Barelli, S. P. Nunes, F. Galembeck, "Cellulose Acetate Membranes for Osmosedimentation: Performance and Morphological Dependence on Preparations Conditions", *Polymer*, 27:937-944, 1986.
- [36] M. C. Gonçalves, "Uso de Membranas Poliméricas no Fracionamento e Concentração de Proteínas e Íons", Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 1990.
- [37] W. Brown, P. Stilbs, R. M. Johnsen, "Self Diffusion and Sedimentation of Dextran in Concentrate Solutions", *Journal of Polymer Science: Polymer Physics*, 20:1771-1780, 1982.
- [38] S. P. Nunes, F. Galembeck, "Percoll and Ficoll Self-Generated Density Gradients by Low-Speed Osmocentrifugation", *Analytical Biochemistry*, 146:48-51, 1985.
- [39] P. E. G. Box, G. W. Hunter, J. S. Hunter, "Statistics for Experimenters", John Wiley & Sons, 1985.

- [40] H. V. Damme, "Flow and Interfacial Instabilities in Newtonian and Colloidal Fluids" in: D. Avnir (Ed.) "The Fractal Approach to Heterogeneous Chemistry: Surfaces, Colloids, Polymer", John Wiley & Sons, 1990.
- [41] A. T. Skjeltorp, "Colloidal Flow" in: R. Pynn, T. Riste (Eds.), "Time Dependent Effects in Disordered Materials", Plenum, 1993.
- [42] D. L. Massart, B. G. M. Vandeginste, S. N. Deming, Y. Michotte, L. Kaufman, "Chemometrics: a Textbook", Elsevier, 1983.
- [43] M. A. Staraf, D. L. Illman, B. R. Kowalski, "Chemometrics", John Wiley & Sons, 1986.
- [44] W. Spendley, G. Hext, R. Himsforth, "The Simplex Method", *Tecnometrics*, 4:441-462, 1962.
- [45] G. E. Box, N. R. Drapper, "Empirical Model-Building and Response Surfaces", John Wiley & Sons, 1987.
- [46] N. Nevers, "Fluid Mechanics for Chemical Engineers", 2nd ed., McGraw-Hill, 1991.
- [47] S. P. Nunes, "Osmocentrifugação e Ultrafiltração Centrífuga", Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 1985.
- [48] R. C. C. Vieira, "Atlas de Mecânica dos Fluidos", Edgard Blücher, 1971.
- [49] S. C. Chapra, P. R. Canale, "Numerical Methods for Engineers", 2nd ed., MacGraw-Hill, 1988.
- [50] K. E. Atkinson, "Numerical Analysis", 2nd ed., John Wiley & Sons, 1989.

[51] A. Einstein, "Investigations on the Theory of the Brownian Movement", Dover, 1956.

[52] B. Trauthnigg, C. Jord, "Densimetric Detection in Gel Permeation Chromatography. VI. An Integration Densimetric Detector", Journal of Chromatography, **241**:147-151, 1982.